Über fermentative Processe in den Organen.

Weitere Versuche über Autodigestion der Organe.

INAUGURAL-DISSERTATION

WELCHE

ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN UND CHIRURGIE

MIT ZUSTIMMUNG

DER MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

AM 28. JULI 1893

NEBST DEN ANGEFÜGTEN THESEN

ÖFFENTLICH VERTEIDIGEN WIRD

DER VERFASSER

Heinrich Schwiening

aus Spremberg N. L.

OPPONENTEN: Herr Dd. med. Stahn.
„ Dr. med. Herr.
„ cand. cam. Grandke.

BERLIN

C. VOGT'S BUCHDRUCKEREI (E. EBERING)

Linkstrasse 16.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535707_0018

Seinem hochverehrten Lehrer

Herrn Professor Dr. med. E. Salkowski

in aufrichtiger Dankbarkeit

der Verfasser.

Der Unterschied zwischen Pflanzen- und Tierreich wurde früher dahin formuliert, dass die Lebensthätigkeit der ersteren in chemischen Synthesen und Reductionsprocessen, die der Tiere in Oxydationen und Spaltungen beruhe. Dieser Unterschied hat sich in ganzer Strenge nicht halten können, auch im Tierreich kommen Synthesen und ausgedehnte Reductionsprocesse vor, wie umgekehrt auch einige pflanzliche Organismen Oxydationen und Spaltungen zeigen. Der Gegensatz der chemischen Vorgänge beider Classen ist also in qualitativer Hinsicht verwischt, er besteht nur noch in quantitativer Beziehung: bei den Pflanzen treten mehr unter Umsetzung von lebendiger Kraft die Reductions- und synthetischen Processe in den Vordergrund, bei den Tieren überwiegen dagegen unter Umsetzung von chemischer Spannkraft in Wärme und lebendige Kraft die Oxydations- und Spaltungsvorgänge.

Die frühere Ansicht, dass die Oxydationen vorwiegend in den tierischen Säften verlaufe, hat der Erfahrung weichen müssen, dass sie an die Formelemente und Gewebe gebunden sei. Näheres soll vor dem letzten Versuche darüber gesagt werden.

Die hydrolytischen Spaltungen, d. h. die mit Zersetzung von Wasser und einer Aufnahme von dessen Bestandteilen verbundenen Spaltungsprocesse, wie sie namentlich bei der Lehre von der Verdauung eine wichtige Rolle spielen, z. B. die Umsetzung der Stärke in Zucker, können in der Regel auch ausserhalb des Tierkörpers durch höhere Temperaturen, sei es mit, sei es ohne Einwirkung besonderer chemischer Reagentien zu Stande gebracht werden. Im tierischen Organismus sind nun diese höheren

Temperaturen oder chemischen Reagentien nicht vorhanden, sie würden den sofortigen Tod desselben herbeiführen. Es müssen ihm also andere, ähnlich wirkende Mittel zur Verfügung stehen, durch welche die fraglichen Processe ohne Gefahr für das Leben und die normale Zusammensetzung der Gewebe durchgeführt werden können. Solche Mittel hat man in den ungeformten Fermenten oder Enzymen kennen gelernt.

Ueber den Unterschied zwischen organisierten Fermenten und ungeformten Fermenten brauche ich an dieser Stelle nichts Näheres zu sagen: ein Ferment im engeren Sinne ist ein lebendes Wesen, ein Enzym dagegen ein Product der chemischen Vorgänge in der Zelle; ein Product, welches die Zelle überleben und von ihr getrennt wirken kann.

Ueber die Natur der Enzyme, ob sie überhaupt schon in reinem Zustande isoliert worden sind, ist nichts Genaueres bekannt. Sie scheinen alle stickstoffhaltig zu sein und den Eiweissstoffen in einigen Beziehungen nahe zu stehen. Allen Enzymen gemeinschaftliche Reactionen giebt es nicht. Von den organisierten Fermenten unterscheiden sie sich dadurch, dass diese von einer Menge von Stoffen z. B. arseniger Säure, Phenol, Salicylsäure, Borsäure, Chloroform und manchen anderen in bestimmter Concentration abgetötet werden, während die Wirkung der Enzyme nicht wesentlich beeinträchtigt wird.

Als ganz besonders bequem zur Untersuchung der Enzymwirkungen unter Ausschluss von Protoplasmawirkung und Bacterien hat E. Salkowski[1]) das Chloroform hervorgehoben und empfohlen.

Bekanntlich gehen in den Geweben auch noch nach dem Tode chemische Processe weiter vor sich, die man wohl ohne Bedenken als denen während des Lebens gleichartig ansehen kann, vorausgesetzt, dass die äusseren Bedingungen denen des Lebens möglichst ähnlich gemacht, und namentlich anderweitige, durch von aussen herantretende Einflüsse hervorgerufene Umsetzungen etc. ferngehalten werden, also besonders, wenn es gelingt, das Hinzukommen von Fäulnisbacterien zu verhindern.

Bei der nun bestehenden Schwierigkeit, zu entscheiden,

ob ein chemischer Process im tierischen Gewebe von überlebendem Protoplasma direct oder von einem von der Zelle gelieferten Producte, einem Enzyme, oder von postmortalen, fremden Einflüssen abhängig sei, musste es freudig begrüsst werden, in dem Chloroform und dem Chloroformwasser ein Mittel gefunden zu haben, welches bei grosser chemischer Indifferenz und Leichtflüchtigkeit starke antiseptische und für das Protoplasma deletaere Eigenschaften besitzt, ohne die Wirkung der Enzyme zu stören.

In zerkleinertem Gewebe, mit Chloroformwasser (1 : 10) übergossen, wird das Protoplasma abgetötet, und Fäulnis ferngehalten, während die gelösten Fermente ganz unangegriffen bleiben. Enthalten nun die so behandelten Gewebe Fermente, so müssen diese ins Chloroformwasser übergehen; wirken diese Fermente auf Substrate der Gewebe selbst ein, so gehen die Producte dieser Wirkung auch in das Chloroformwasser über. Man hat also in dem Chloroformwasser ein vorzügliches Mittel zur Aufsuchung von Fermenten in den Geweben, zumal sich dasselbe infolge seiner Leichtflüchtigkeit jederzeit durch einen Luftstrom entfernen lässt.

Die erste Beobachtung über das Vorkommen solcher Fermente, welche auf die Substrate der Zelle selbst einwirken, machte Salkowski[2]) an der Hefe. Liess er amylumfreie Presshefe einige Tage unter Chloroformwasser stehen, so blieb die sogenannte Selbstgährung der Hefe — Bildung von Alkohol und Kohlensäure, welche regelmässig eintritt, wenn man Hefe mit Wasser übergossen stehen lässt — aus, dagegen bildete sich eine ansehnliche Quantität linksdrehenden, gährungsfähigen Zuckers. Diese Zuckerbildung trat nicht auf, wenn man die Hefe vorher durch Erhitzen sterilisiert hat, und dann erst mit Chloroformwasser stehen lässt. Hierin lag der Anstoss für die Anordnung einer Versuchsreihe, welche Salkowski zuerst noch weiter an der Hefe anstellte, dann aber auch auf andere Gewebe ausdehnte, und der er den Namen der Autodigestion der Organe[3]) gegeben hat.

Die allgemeine Anordnung der Versuche war folgende: Das betreffende Organ, einem soeben verbluteten

Tiere entnommen, wird fein zerhackt und mit der zehnfachen Quantität Chloroformwasser vermischt in vorher sterilisierte Glasstöpselflaschen gespült; darauf wurden der Mischung noch einige cbcm Chloroform hinzugefügt, um der vollständigen Sättigung mit Chloroform sicher zu sein, dann die Mischung kräftig durchgeschüttelt und bei Brüttemperatur 60—70 Stunden digeriert.

Zu jedem derartigen Versuche gehört nun ein Controllversuch, durch welchen festzustellen ist, was von dem im Hauptversuch Ermittelten auf Rechnung der Wirkung des Wassers allein, unter Ausschluss einer jeden Fermentwirkung, resp. auf Rechnung der nachfolgenden Proceduren zu setzen ist.

Es wurde also jedesmal eine zweite, gleiche Quantität des Organbreies abgewogen, durch $1^1/_2$stündiges Erhitzen im strömenden Dampf sterilisiert, und dann erst ebenso behandelt wie im Hauptversuch. Das Sterilisieren im strömenden Dampfe hat nun eine erhebliche Bildung von Leim zur Folge, welcher in Lösung geht und die Quantität der in Lösung gegangenen, stickstoffhaltigen Substanzen zu Ungunsten des Hauptversuches vermehrt. Dieser Fehler lässt sich leicht dadurch vermeiden, dass man im Controllversuch die abgewogene Quantität Organbrei nicht im strömenden Dampfe sterilisiert, sondern mit der ca. 10fachen Quantität Wasser zum Kochen erhitzt, erkalten lässt, dann erst das nötige Chloroform zusetzt, gut durchschüttelt und digeriert. Im Hauptversuch muss dann ebenfalls eine Kochung stattfinden, natürlich nicht am Anfang, sondern am Ende des Verfahrens. Nunmehr sind Haupt- und Controllversuch analog, mit dem einzigen Unterschied, dass in dem Controllversuch die Kochung vor der Digestion stattfindet, zum Ausschluss der Fermentwirkung, in dem Hauptversuch nach der Digestion, also nachdem die Fermentation stattgefunden hat.

Bei dem Erhitzen zum Sieden gehen nun, wenn auch nicht in demselben Umfange wie bei $1^1/_2$stündigem Erhitzen im strömenden Dampfe, Substanzen, namentlich Leim, in Lösung, welche bei der Digestion allein sich nicht lösen. Man hat also in der durch Filtration der Mischung des Hauptversuches erhaltenen Lösung nicht

allein die Producte der Fermentation, sondern auch die der Einwirkung des siedenden Wassers. In quantitativer Beziehung ist allerdings dieser Uebelstand unwesentlich, da man durch Abziehen der im Controllversuche erhaltenen Werte doch erfährt, was der Autodigestion als solcher zuzuschreiben ist. Der Nachteil, dass Producte des siedenden Wassers in Lösung gehen, welche das Resultat in qualitativer Beziehung trüben, lässt sich aber nicht vermeiden. Salkowski hat deshalb teils nach der einen, teils nach der anderen Versuchsanordnung gearbeitet, ich habe dagegen nur das Kochen beider Mischungen, vor und nach der Digestion angewandt.

Die Resultate Salkowskis waren folgende:

1. Die Xantinkörper gehen in den Hauptversuchen, sowohl bei Hefe als auch im Muskel- und Leberbrei, vollständig, in dem Controllversuch nur zum Teil in Lösung; in dem Hauptversuch ist also die ganze darstellbare Quantität von Xanthinkörpern aufgetreten, sodass durch Kochen der Rückstände mit verdünnter Säure nach Kossel zur Zerlegung etwa noch vorhandenen Nucleins nur noch Spuren von Xanthinkörpern erhalten werden konnten; zugleich war es in „manifester Form“ vorhanden, d. h. durch ammoniakalische Silberlösung direct vollkommen fällbar; in dem Controllversuche steckte noch ein Teil in Form von Nuclein im Organbrei — der in Lösung gegangene Anteil war aber nur zum Teil direct fällbar, 2. T. 1 erst nach Kochen mit verdünnter H_2SO_4 vor dem Silberzusatz, er war also in „latenter Form“ vorhanden.

2. In den Leberauszügen fand sich im Hauptversuch (wir wollen ihn von jetzt an der Kürze wegen A, den Controllversuch B nennen): Zucker, kein Glycogen, erhebliche Quantitäten von Leucin, Tyrosin, keine Biuretreaction während in B nur Spuren von Zucker, reichlich Glycogen, kein Leucin und Tyrosin, Biuretreaction sich zeigt. Ferner war in A erheblich mehr organische Substanz, P_2O_5 und N in Lösung gegangen als in B. Der Säuregehalt war in beiden Fällen der gleiche.

3. In den Muskelauszügen war in A keine Biuretreaction, schwache Reduction von CuO zu Cu_2O zu constatieren, während B umgekehrt gute Biuretreaction, aber

keine Reduction zeigte. In beiden war kein Leucin und Tyrosin. Organische Substanz, P_2O_5 und N waren in A nicht vermehrt, im Gegensatz zur Leber. Ein geringes Plus von Säuren erwies sich als Fettsäure, wahrscheinlich in Folge der fettspaltenden Wirkung der Gewebe.

Die folgenden Versuche wurden begonnen als einfache Wiederholungen der Salkowski'schen Untersuchungen unter Berücksichtigung einzelner besonderer Fragen, welche Salkowski schon am Schluss seiner Arbeit angeregt hat. Im Laufe der Untersuchungen tauchten aber eine Menge anderer, mit der Autodigestion nicht direct in Zusammenhang stehender Fragen auf, die ich berücksichtigen zu müssen glaubte, so dass der Titel der Arbeit „Ueber fermentative Processe in Organen" mir geeigneter schien als: Autodigestion der Organe.

Versuch I.

Die möglichst schnell abpräparierte Muskulatur eines durch Verbluten aus der Carotis getödteten Kaninchens wird gut zerhackt, in 2 Teile zu je 250 gr geteilt; der eine wird, mit 2500 ccm Chloroformwasser übergossen, in einer sterilisierten Flasche bei Brüttemperatur digeriert (Hauptversuch A); während der zweite Teil zuerst mit 2500 Wasser aufgekocht, nach dem Erkalten mit $12^1/_2$ ccm Chloroform versetzt, nun erst in einer sterilisierten Flasche digeriert wird. (Controllversuch B.) Nach 48 stündiger Digestion wird der Inhalt der Flasche A in einer Schale zum Sieden erhitzt und einige Minuten darin erhalten.

Der Inhalt der Flasche B wird in diesem Versuche nicht noch einmal erhitzt.

Beide Flüssigkeiten werden coliert, nachgewaschen; der Auszug von A ist ziemlich klar, hellgelb, der Auszug von B ziemlich trübe. Die Reaction ist bei beiden neutral. Sie werden auf dem Wasserbade bis unter 250 ccm eingedampft, nach dem Erkalten auf 250 ccm aufgefüllt und nochmals filtriert. Der Auszug von A ist jetzt absolut klar, der von B bleibt trübe.

Es wurden folgende Bestimmungen ausgeführt:

1. Trockenrückstand.

a) 20 ccm von A lieferten, auf dem Wasserbade

bis zur Trockne eingedampft und bei 110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet

0,6998 Trockenrückstand, darin
0,5115 Organisches,
0,1883 Salze.

b) 20 ccm von B lieferten, ebenso behandelt
0,6706 Trockenrückstand, darin
0,4911 Organisches,
0,1796 Salze.

Die Aschenrückstände von A und B in H_2O + HCl gelöst und die Gesamtphosphorsäure bestimmt:

A: 0,0650 PO_5
B: 0,0605 PO_5.

II. Zuckerreactionen.

Von A und B werden ca. 20 ccm durch Erwärmen vom Chloroform[1]) befreit, nach dem Erkalten wieder auf 20 ccm aufgefüllt.

Die Trommersche Probe mit NaOH und $CuSO_4$ giebt in beiden Auszügen keine deutliche Zuckerreaction, wenngleich eine leichte Reduction, bei A stärker als bei B, bemerkbar ist.

Um zu untersuchen, ob Cu_2O sich zwar gebildet, aber nicht ausgefallen ist, wird HCl und und KCNS hinzugefügt (Bildung von $CuCl_2$ und Umwandlung desselben in völlig unlösliches Kupfersulfocyanuer): in A ein sehr erheblicher Niederschlag, in B viel geringer.

Reaction mit Fehlingscher Lösung fällt ebenfalls nicht beweisend aus.

III. Milchsäurebestimmung.

200 ccm von jeder Flüssigkeit werden bis zur Syrupconsistenz eingedampft (Reaction neutral), mit absolutem Alkohol gefällt, filtriert, das Filtrat zur Entfernung des Alkohols eingedampft. Der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit Barytwasser bis zu alkalischer Reaction versetzt, zur Entfernung etwaiger Fettsäuren durch Seifen-

[1]) Die Auszüge wurden, da es nicht möglich war, alle Untersuchungen unmittelbar nach dem Eindampfen vorzunehmen, stets mit einigen Tropfen Chloroform versetzt und so vor dem Verderben geschützt in gut schliessenden Flaschen stehen gelassen.

bildung; filtriert, nachgewaschen. Das Filtrat wird zur Entfernung des Fettes mit Aether ausgeschüttelt, darauf mit 5 ccm Orthophosphorsäure versetzt und nun je 5—6 mal mit immer neuen Mengen Aether ausgeschüttelt.

Der Aether wird abdestilliert, der Destillationsrückstand mit Aether nochmals ausgewaschen, der Aether verdunstet. Der Rückstand wird in Wasser gelöst, filtriert, in gewogenem Schälchen mehrmals eingedampft, im Exsiccator getrocknet. Der hellgelbe, syrupöse Rückstand wiegt bei A 0,119, bei B 0,117 gr. Wieder in Wasser gelöst mit Zinkoxyd gekocht, filtriert, nachgewaschen, bis zu beginnender Krystallisation eingedampft, dann ueber H_2SO_4 stehen gelassen. Es ergiebt sich bei A 0,158 gr, bei B 0,181 gr Zinc. paralacticum.

Die Krystalle, die schön weiss und rein aussehen, werden in Wasser gelöst, mit H_2S vom Zink befreit, filtriert, eingedampft — beide Portionen zeigen die Uffelmannsche Reaction.

Die mit Aether ausgeschüttelten wässerigen Rückstände werden, auf dem Wasserbade vom Aether befreit, zur Entfernung der P_2O_5 mit Barytwasser versetzt, filtriert, vom überschüssigen Ba mittelst CO_2 befreit, filtriert, eingeengt, in Wasser aufgenommen, mit Alkohol gefällt, filtriert; der Alkohol wird aus den Filtraten vertrieben, die Rückstände auf 50 ccm aufgefüllt. Beide Portionen werden mit Essigsäure neutralisiert, mit bas. Bleiacetat gefällt, filtriert, die Filtrate mit NH_3 und Bleiessig versetzt und zum völligen Ausfällen stehen gelassen. Darauf werden die Fällungen filtriert: 1) Der Filterrückstand in Wasser aufgenommen, mit H_2S entbleit, filtriert, das Filtrat eingedampft. Der Rückstand ist bei A erheblich grösser als bei B. Leider geht durch Zerbrechen des Kolbens ein Teil von A verloren, so dass genauere quantitative Bestimmungen nicht möglich sind. Beide Rückstände werden auf 30 ccm aufgefüllt:

Trommersche Probe bei beiden nicht beweisend, wenngleich bei A eine gewisse Reduction eingetreten ist. Dasselbe Resultat ergeben die mit frisch bereiteter Fehlingscher Lösung angestellten Versuche.

Auf Zusatz von HCl und KCNS fällt in A ein

ziemlich reichlicher, in B gar kein Niederschlag aus.

Die beiden Reste zeigen deutliche Kohlenhydratreaction (Zusatz von α-Naphthol und concentr. H_2SO_4 und Bildung von Furfurol.)

Beim Stehenlassen von A, in Wasser gelöst, fällt ein Niederschlag aus, der unter dem Mikroskop den Verdacht auf Leucin erweckt, dessen Natur aber nicht näher untersucht wurde.

2) Das Filtrat wird mit $(NH_4)_2CO_3$ vom Blei befreit, filtriert, eingedampft, Trommersche Probe: weder A noch B positive Zuckerreaction, wenn auch in A leichte Reduction sichtbar.

Auf Zusatz von HCl und KCNS in beiden Portionen ein dichter Niederschlag; in A jedoch viel stärker als in B. Da Kreatinin teils die Trommersche Probe stört, teils das CuO in Lösung halten kann, wird die Weylsche Kreatininprobe (auf Zusatz von NaOH mit Nitroprussidnatrium $Na_2Fe(CN)_5NO$ rubinrote Färbung und rasches Gelbwerden) angestellt und fällt auch intensiv aus.

Xanthinkörper fallen auf Zusatz von ammoniakalischer Silberlösung nicht aus.

Rechnet man die bei den quantitativen Bestimmungen erhaltenen Resultate auf 1000 gr. Muscel um, so ergiebt sich Folgendes:

Aus 1000 gr. Muscel sind Lösung gegangen:	Im Hauptversuch(A)	Im Controllversuch (B)	Differenz zwischen AB
Organische Substanz	25,575	24,555	+ 1,02
Aschenbestandteile	9,415	8,975	+ 0,44
Phosphor-Säure, darin Milchsäure, als Zinc. paralacticum berechnet:	0,790	0,905	− 0,115

1. Vergleichen wir die gewonnenen quantitativen Resultate, betreffend die Trockenrückstände mit denen, die Salkowski an den Muskeln gefunden, so zeigt sich, dass zwar hier organische Substanz sowohl wie Salze und Phosphorsäure darin im Hauptversuch vermehrt sind — im Gegensatz zu den anderen Resultaten, wo nur für die Mineralsubstanzen eine geringe Zunahme constatiert werden konnte. Im Vergleich zu den Ergebnissen der Ver-

suche an der Leber kommen aber auch diese geringen Zunahmen kaum in Betracht.

2. Milchsäure fehlt nicht, wie Salkowski nach den ersten Versuchen annahm, sondern ist, wenn auch in sehr geringer Menge vorhanden. Insofern bestätigen meine Versuche jedoch die früheren, dass der Process der Autodigestion keinen vermehrenden Einfluss hat auf die Bildung von in Wasser löslichen Säuren. Weitere Versuche sollen über diesen Punkt noch näheren Aufschluss geben.

3. Eigentümliche Verhältnisse zeigten sich bei dem Versuche, Zucker im Muskelauszuge nachzuweisen. Dass eine reducierende Substanz in dem ursprünglichen Auszuge, sowohl in A. wie in B. vorhanden ist, kann wohl mit Sicherheit behauptet werden, ebenso dass A. stärker reducierte als B. Auch der starke Niederschlag in A. bei Zusatz von HCl und KCNS ist ein Beweis, dass Reduction von CuO zu Cu_2O eingetreten ist. Ob diese Reduction jedoch von Traubenzucker herrührt, ist damit nicht erwiesen.

Auch das Verhalten der mit Aether extrahierten wässerigen Rückstände lässt die Anwesenheit einer reducierenden Substanz als sicher erscheinen. Die Anwesenheit von Kreatinin legt die Vermutung nahe, dass das Ausfallen von Cu_2O dadurch verhindert ist.

Die Alcoholniederschläge waren leider durch ein Versehen vernichtet, konnten also keiner Probe unterzogen werden.

4. Die Xantinkörper, über deren Verhalten Salkowski genauere Mitteilungen gemacht, müssen bei der längeren Behandlung schon an irgend einer Stelle ausgefallen sein — ein neuer Beweis, dass es nicht möglich ist, mehrere Versuche an demselben Material vorzunehmen, ohne Fehler zu machen und Verluste zu erleiden.

Versuch II.

Ein kräftiger Hund wird durch Verbluten aus der Carotis getötet. Darauf wird so schnell wie möglich die Schenkelmusculatur fein zerhackt; 5 Portionen à 300 gr werden schnell abgewogen und folgendermassen behandelt:

A. 300 gr werden mit Chloroformwasser, 3000 ccm in sterilisierter Flasche bei Brüttemperatur digeriert ca.

70 Stunden lang; darauf aufgekocht, coliert, die Colatur eingedampft und wie Hauptversuch A. in Vers. I weiter behandelt.

B. 300 gr werden mit 3000 ccm Wasser aufgekocht, nach dem Erkalten mit dem entsprechenden Chloroform versehen, und bei Brüttemperatur ca. 70 Stund. lang digeriert. Darauf gelinde erhitzt, coliert, die Colatur eingedampft und ebenso weiter behandelt.

C. 300 gr werden mit 3000 ccm Wasser extrahiert, bis 40—45 Grad erwärmt, filtriert; Filtrat wird gekocht und eingedampft. Der Extract ist schön klar. Die weitere Behandlung ist ebenso wie in A. und B.

D. 300 gr. werden gekocht, filtriert, das Filtrat wird eingedampft und wie oben weiter behandelt.

E. 300 gr. werden 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur liegen gelassen, ohne dass bacterielle Veränderungen weder sichtbar sind noch mit dem Geruch wahrgenommen werden. Darauf in 1200 ccm Wasser $^1/_2$ Stunde bei 40—45 Grad digeriert, nachdem es bei Zimmertemperatur etwas aufgeweicht. Nachdem es coliert ist, wird der Rückstand nochmals zerhackt, digeriert, coliert, ausgepresst. Die vereinigten Colaturen werden enteiweisst, filtriert, das Filtrat eingedampft, und so weiter behandelt.

Die gewonnenen Resultate, deren quantitative Ergebnisse ich in einer Tabelle unten folgen lasse, sind leider wenig zufriedenstellend.

Es zeigte sich, dass alle Zinkpräparate mehr oder minder durch schmierige Massen verunreinigt waren. Die angestellten Trocknungen bei 100 Grad ergaben trotzdem, mit einer Ausnahme C, annähernden Krystallwassergehalt, von 12,18—13,92 % (12,9 ist der theoretische Krystallwassergehalt), Zahlen, wie sie von anderen Autoren als beweisend angeführt werden.

Zur genaueren Untersuchung wurde der Zinkgehalt geprüft: die Salze wurden in Wasser unter Zusatz einiger Tropfen HCl gelöst, bis fast zum Sieden erhitzt, tropfenweise mit Na_2CO_3 versetzt, bis zu deutlicher Alkalescenz, darauf mehrere Minuten gekocht, durch ein aschefreies Filter decantiert und dies 3—4mal wiederholt. Das Filter wird

dann mit kochendem Wasser nachgewaschen, bis das Wasser keine Chlorreaction und die Natriumflammenreaction nur noch Spuren von Na ergaben. Darauf wurde das Filter getrocknet, verbrannt, das gebildete Zinkcarbonat durch Glühen in Zinkoxyd verwandelt und dieses gewogen.

Es ergab sich nun, dass nur die Portion D., d. i. diejenige, welche nach dem gewöhnlichen Gang für die Milchsäurebestimmung behandelt war, dass nur diese einen dem Gewicht einigermassen entsprechenden Zinkgehalt hatte: 33,34 % statt 33,25 %

Nimmt man an, es wäre alles vorhandene Zink nur an Milchsäure gebunden gewesen und berechnet man daraus die dem vorhandenen Zinkoxyd entsprechenden Mengen Zinkparalactat, so erhält man die Zahlen, die ich in der Columne 7 der folgenden Tabelle eingefügt habe. Die Differenz zwischen diesen berechneten Zahlen und den gewonnenen Gewichten würde auf Verunreinigungen zu setzen sein. Hierbei zeigt sich, dass wieder Portion D. am wenigsten verunreinigt wäre.

Versuchsnummer	Gewicht des Zinkparalactats + Krystallwasser	Gewicht des Zinkparalactats — Krystallwasser	Gewichtsverlust nach Trocknen bei 100° C. absolut	Gewichtsverlust nach Trocknen bei 100° C. in Procenten	Menge des Gewonnenen Zn O absolut	Menge des Gewonnenen Zn O in Procenten	Zinkparalactat, dem gewonnenen Zn O entsprech. 33,2.	Differenz zwisch. gewogenem und berechnetem Zinkparalactat.
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
A.	0,3735	0,3255	0,047	12,58%	0,069	21,19%	0,2075	0,118
B.	0,3805	0,3275	0,053	13.92%	0,0685	20.91%	0,2060	0,1215
C.	0,319	0,2908	0,0285	9,81%	0,09	30,94%	0,2707	0,02
D.	0,427	0,368	0,059	13,81%	0,119	32,34%	0.3579	0.01
E.	0,509	0.4425	0,062	12,18%	0,1145	25,88%	0,3444	0,098

Zwischen A und B herrscht jedoch eine merkwürdige Uebereinstimmung.

Die Menge des bei der Analyse gewonnenen Zinkoxyds ist bei beiden Portionen fast gleich, in Procenten berechnet sind die Unterschiede auch nur gering, und die diesem Zinkgehalt entsprechenden Mengen von Zinkparalactat zeigen so minimale Differenzen, dass sie bei der-

artigen, immerhin nicht ganz zuverlässigen Darstellungsmethoden gar nicht in Betracht kommen. Nimmt man hinzu, dass auch die ursprünglich gewonnenen Zahlen fast genau übereinstimmen, so wird man, glaube ich, mit gutem Gewissen sagen können, dass in beiden Versuchsmischungen gleichviel resp. gleichwenig Milchsäure vorhanden ist.

Die Alkoholrückstände von A und B werden in heissem Wasser gelöst, auf 100 ccm gebracht. 25 ccm davon werden mit Knochenkohle entfärbt: beide zeigen keine Biuretprobe.

Je 10 ccm werden nach Kieldahl auf N untersucht:

A. in 10 ccm 0,0854 gr N.

B. in 10 ccm 0,056 gr N.

Also in den ganzen Alkoholrückständen

A. 0,854 gr N. B. 0, 56 gr N.

Wenn man auch aus diesen Zahlen keinen Schluss ziehen kann auf die absolute Menge des in Loesung gegangenen N, da sie nur aus den Alkoholfällungen berechnet sind, so beweisen sie doch wiederum, dass bei der Autodigestion der Muskeln mehr N frei wird als aus vorher gekochten Muskeln.

Die wässrigen Rückstände von der Aetheranschüttelung von A und B werden mit Phenylhydrazin und essigsaurem Natron (1 : 2) ca. $1^1/_2$ Stunden gekocht; in A fällt ein ziemlich reichlicher Niederschlag aus, in B kommen fast nur harzige Massen zur Ausscheidung.

Während sich das Phenylhydrazin und das essigsaure Natron in den beiden Flüssigkeiten lösen, fällt plötzlich in beiden ein ziemlich reichlicher, gelblich-brauner Niederschlag aus, der abfiltriert sich als nur aus anorganischen Substanzen bestehend erweist.

Versuch III.

Ein grosser Hund wird durch Verbluten aus der Carotis getötet; möglichst schnell werden Stücke aus der Schenkelmusculatur von Fett und Bindegewebe gereinigt, zerhackt und in 2 Portionen à 400 gr geteilt, die wie A und B in Versuch I behandelt werden.

Die quantitativen Ergebnisse waren folgende:

A. Zincum paralacticum

über H_2SO_4 getrocknet 0,2245

Z. p. bei 100° getrocknet 0,1970

Verlust 0,0275 gr.

= 12,2 %

Zinkanalyse ergiebt einen Gehalt an Zink, als Oxyd berechnet, von 29,18%.

B. Zinc. paralact. über H_2SO_4 getrocknet. 0,2380

bei 100° getrocknet 0,211

Verlust 0,027

= 10,92%.

Zinkanalyse ergiebt einen Zinkgehalt, als Oxyd berechnet, von 32,31%.

Die wässrigen Rückstände der Aetherausschüttelung werden von der Phosphorsäure mit Ba, und von überschüssigen Ba mit CO_2 befreit, und dann mit salzs. Phenylhydrazin + Natriumacetat (1 : 2) versetzt, filtriert; die Filtrate werden im Wasserbade 1½ Stunden erhitzt:

In A reichlich Ausscheidung,

in B gar keine Ausscheidung.

Den Schmelzpunkt dieses Niederschlages als auch des in Versuch II, A gewonnenen Osazons zu bestimmen, hatte Herr Prof. Salkowski die Liebenswürdigkeit. Er fand für Versuch II A:

Schmelzpunkt ungereinigt 182°. Das Präparat wurde mit alkoholhaltigem Aether übergossen und unter gutem Umrühren einige Stunden stehen gelassen, filtriert, mit Aether nachgewaschen, getrocknet. Der Schmelzpunkt liegt jetzt bei 195°.

Versuch III A.

Schmelzpunkt ursprünglich: 184°

Nach der Reinigung: 194°

Der Schmelzpunkt für Glycosazon liegt bei 205° [4]). 199° ist der Schmelzpunkt für Galactosazon. Es ist vor der Hand höchst unwahrscheinlich und kaum anzunehmen, das wirklich Galactose es sei, welche hier mit Phenylhydrazin in Verbindung gegangen sei. Möglicherweise würde es gelingen, durch nochmaliges Reinigen einen

höheren Schmelzpunkt zu finden, der dem der Glycose entspricht. Weitere Untersuchungen mit grösseren Mengen Materials müssen hierüber noch angestellt werden.

Nach Abschluss der Arbeit (dieselbe wurde im Wintersemester 1892/93 ausgeführt) ist eine Mitteilung von Pomarnoff (Zeitschrift f. physiol. Chemie XVIII, Heft 6, ausgegeben den 23. III. 93) erschienen, nach welcher derselbe gleichfalls Phenylglucosazon aus Muskeln, jedoch immer nur in sehr geringer Quantität erhalten und analysiert hat.

Der Milchsäure im Fleische haben in den letzten Jahrzehnten eine grosse Zahl von Forschern ihre Arbeit gewidmet; leider zeigt die Litteratur sehr wenig Uebereinstimmung und weder die Frage der Entstehung, noch die des Ursprunges kann als entschieden betrachtet werden.

Von den 4 möglichen Säuren der Formel $C_3H_6O_3$ kommen in physiologisch-chemischer Bedeutung nur die beiden Modificationen der Aethylidenmilchsäure oder Isopropylglycolsäure CH_3-CH(OH)-COOH in Betracht, die optisch inactive Gährungsmilchsäure, auch α-Oxypropionsäure, und die optisch active rechtsdrehende Paramilchsäure, früher, auch jetzt noch Fleischmilchsäure genannt.

Von den beiden anderen von der Formel $CH_2(OH)$-CH_2-COOH ist die Hydracrylsäure gar nicht im Organismus gefunden worden, das Vorkommen der Aethylenmilchsäure oder β-Oxypropionsäure ist noch streitig.

Die α-Oxypropionsäure oder Gährungsmilchsäure ist zuerst von Scheele in saurer Milch entdeckt, wo sie durch den Milchsäurebacillus entsteht. Die Paramilchsäure wurde zuerst von Liebig im Fleischextract gefunden.

Die beiden isomeren Säuren zeigen namentlich in ihren Salzen grosse Verschiedenheiten; über den in ihrem Krystallwassergehalt sich zeigenden Unterschied siehe Genaueres in der Anmerkung.

Anmerk. Das Zinksalz der Gährungsmilchsäure krystallisiert mit 3, das der Paramilchsäure mit 2 Molecülen Krystallwasser. Sal-

kowski hat schon vor mehreren Jahren festgestellt, dass das gährungsmilchsaure Zink über H_2SO_4 im Exsiccator stehend nach einiger Zeit ca. 14 Tagen sein gesamtes Krystallwasser (18,18 % seines Gewichtes) verliert. Daher ist die gewöhnliche Angabe bei der Herstellung des Zinksalzes, die Lösung bis zur beginnenden Krystallisation einzudampfen und dann über H_2SO_4 stehen zu lassen, wenig geeignet, richtige Resultate zu erzielen, da stets von vornherein etwas Krystallwasser darin verloren geht. Es lag nahe, auch für die Paramilchsäure die gleiche Eigenschaft anzunehmen, zumal sich in der Litteratur über ein verschiedenes Verhalten der beiden Zinksalze nichts findet. Ueberhaupt schreiben weder die gebräuchlichen Hand- und Lehrbücher der organischen Chemie älteren und neueren Datums (Limpricht, Wöhler, Kolbe, Richter, Beilstein) noch die der physiologischen Chemie (Lehmann, Kuehne, Marchand, Liebig, Hammersten, Hoppe-Seyler) etwas über das Verhalten der Lactate über H_2SO_4, nur Gmelin giebt von dem Zinc. lacticum an, dass es nichts über Vitriol verliere." Bei 100—110 Grad, lauten die übereinstimmenden Angaben, verliert das gährungsmilchsaure Zink sehr schnell, das Zinkparalactat sehr langsam sein Krystallwasser. Nun hat Werther in letzter Zeit angegeben, dass das Zinc. paralacticum über H_2SO_4 1 Molecül (6,5 %) verlöre.

Um diesen Widerspruch zwischen dem gährungsmilchsauren und paramilchsauren Zink, wie er in den Angaben mit Versuchen von Gmelin, Salkowski und Werther sich zeigt, zu controllieren, habe ich eine Anzahl von Portionen der beiden Salze teils über H_2SO_4, teils über $CaCl_2$ längere Zeit hindurch stehen lassen und von Zeit zu Zeit das Gewicht festgestellt. Dass dabei benutzte Zinc. parataticum war aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium des Herrn Dr. Grübler-Leipzig bezogen. Es löste sich in Wasser vollständig bis auf minimale Spuren von ZnO. Sein Krystallwassergehalt bei 100—110 Grad bestimmt, betrug 13,16 %.

Dabei zeigte sich nun, dass Parazinklatat über H_2SO_4 durchweg in den ersten 21—24 Tagen gar nichts am Gewicht abnahm, dann ganz allmählich etwas leichter wurde, bis es, nachdem es ca. 75—80 Tage gestanden, einen grösseren Gewichtsverlust zeigte, und zwar war z. B. eine Portion um 1,94 %, eine andere um 3,9 % leichter geworden. Das gährungsmilchsaure Zink, welches teilweise in demselben Exsiccator über derselben H_2SO_4 gestanden, hatte dagegen schon nach 9 Tagen 6,5 %, also 1 Molecül verloren und zeigte, nach 75 Tagen, wahrscheinlich schon bedeutend früher, völligen Verlust des Krystallwassers (18,29 %). Ueber $CaCl_2$ zeigte das paramilchsaure Zink dasselbe Verhalten, d. h. nach 70 Tagen einen Verlust von 8,9 %, während hier die Gährungsmilchsäuren nach 59 Tagen um 2,55 % abgenommen hatte. Die angeführten Zahlen zeigen also, dass die Paramilchsäure durchaus nicht constant 1 Molecül über H_2SO_4 verliert, wie Werther angiebt. Die Zahlen stehen in einem eigentümlichen Verhältnis zu einander: 3,9 ist ca. $^1/_2$ Molecül, 1.94 ca. $^1/_4$ Molecül, beide allerdings etwas zu viel. Weit entfernt, hieraus etwa schliessen zu wollen, dass der Krystallwasserverlust der Paramilchsäure sich in bestimmten

Bruchteilen eines Molecüls bewege, je nach irgendwelchen bisher unbekannten Verhältnissen. — glaube ich vielmehr, dass man von einem constanten Verlust über H_2SO_4 gar nicht reden kann. Vielleicht ist ein Molecül das Maximum, welches es verlieren kann, jedenfalls scheinen dabei bei verschiedenen Präparaten auch verschiedene Verhältnisse zu herrschen. Eins glaube ich aber als sicher hinstellen zu können, dass das paramilchsaure Salz gleich seinem Verhalten bei 100° nur sehr langsam sein Krystallwasser abgiebt, und dass darin ein bemerkenswertes Unterscheidungsmerkmal zur Gährungsmilchsäure liegt, welches schon nach kurzer Zeit grössere Mengen des Wassses verliert nnd nach verhältnismässig kurzer Zeit dasselbe ganz verloren hat.

Was nun die Milchsäure im Fleisch betrifft, so sind die Angaben darüber noch nicht ganz abgeschlossen. Ob, wie Heintz[6]) angiebt, auch die Gährungsmilchsäure im Fleich vorkommt, ist wohl durchaus nicht sicher.

Wislicenus[8]), der die genauesten Untersuchungen über diesen Gegenstand angestellt, ist zu dem Resultat gekommen, dass die Milchsäure im Fleische ein Gemisch von 2 verschiedenen Säuren sei, von denen die eine, die Hauptmenge, nach rechts dreht, gut krystallisierbare Salze bildet und mit der Aethyliden-Milchsäure isomer ist; Heintz hat dieser dann den Namen Paramilchsäure gegeben. Daneben kommt eine andere Säure in viel geringerer Menge vor, die in ihren Salzen sehr geringes Krystallisationsvermögen besitzt, deren Zinksalz nur einen zerfliesslichen Gummi bildet; dies soll die Aethylenmilchsäure sein.

M. Siegfried[9]) hat diese wenig krystallisierende Milchsäure in neuerer Zeit in Form eines bas. Salzes abgeschieden und glaubt es, als Acetylmilchsäure erkannt zu haben. Er leitet es ab von einer Vereinigung von milchsaurem und essigsaurem Zink beim Kochen ihrer Lösungen und glaubt, aus dem fast regelmässigen Vorkommen von Essigsäure im Muskel das Vorkommen dieses nicht krystallisierenden Lactates erklären zu können.

Da die eigentliche Milchsäure durch Gährung entsteht, so lag es nahe, auch für die Bildung der Paramilchsäure den Grund in einem Gährungs- oder wenigstens in einem enzymatischen Processe zu suchen. R. Maly[10]) fand auch bei Einwirkung von Magenschleimhaut auf Zucker cr. in der Hälfte der Fälle neben Gährungsmilchsäure auch Paramilchsäure. Uebrigens ist in neuerer Zeit vielfach Bildung von Fleischmilchsäure durch Bacterien beobachtet

worden, z. B. von Nencki und Sieber[11]) durch den Micrococcus acidi paralactici, den Rauschbrandbacillus, und manchen anderen. Ob man nun diese fermentative Entstehung aus Kohlenhydraten auch auf den Organismus übertragen kann, ist eine andere Frage. Es handelt sich zuerst darum, unter welchen Bedingungen entsteht Milchsäure in den Muskeln resp. wird sie vermehrt?

Die frühere Ansicht von der Bildung der Milchsäure bei der Thätigkeit des Muskels und der dadurch hervorgerufenen sauren Reaction des thätigen gegenüber der amphoteren Reaction des ruhenden Muskels (Du Bois Reymond) wurde später von Astaschewsky[12]) bestritten, welcher in tetanisierten Muskeln keine freie Milchsäure auffinden konnte; selbst wenn er die Milchsäure durch HCl frei macht, ist die Menge derselben in tetanisierten Muskeln geringer als in ruhenden, ja in gelähmten Muskeln. Pflüger, Warren[13]) und Blome[14]) vertraten dieselbe Ansicht.

Im Gegensatz hierzu hatten schon Spiro[15]) nach anstrengender Muskelthätigkeit im Blute Fleischmilchsäure in nicht unerheblichen Mengen gefunden, vor kurzem auch G. Colasanti und B. Moscatelli[16]) aus 15—20 l frischen Harn nach anstrengendem Marsche 0,48 gr Zinc paralacticum gewonnen. Direct im Froschmuskel hatte Marcuse[17]) die Vermehrung der Milchsäure durch die Arbeit nachgewiesen und Moritz Werther (l. c.) dieselben Resultate an Kaninchenmuskeln erzielt.

Ferner entsteht sicher Milchsäure bei der sogenannten Todtenstarre, was wohl von keinem Autor bestritten ist.

Es liegt, worauf schon Salkowski hindeutet, etwas Paradoxes darin, dass ein und dieselbe Säure einerseits bei gesteigerter Leistung gebildet wird, andererseits im Tode. Allerdings liegen Angaben vor, dass die Muttersubstanz der Milchsäure in beiden Fällen nicht dieselbe sei. Dass es in beiden Fällen dieselbe Milchsäure ist, schliesst M. Werther (l. c.) aus dem gleichen Krystallwassergehalt der beiden Zinksalze. Während nämlich die Annahme nahe lag, die Milchsäure aus dem Muskelglycogen entstehen zu lassen, und auch einige Autoren, wie Nasse[18]) und Werther (l. c.) eine Abnahme des Glycogens bei der Starre beobachtet haben, hat Boehm[19]) in zahlreichen Versuchen

bei der Todtenstarre keine Abnahme des Glycogens constatieren können, trotzdem er eine Milchsäurevermehrung fand. Dass bei der Thätigkeit dagegen stets das Glycogen verbraucht wird, ist bisher nicht bestritten worden, alle darüber gemachten Angaben (Nasse, Brücke und Weiss[20]) Kuelz[21]), Marcuse (l. c.) u. a.) sprechen von einer starken Abnahme, sodass man sich doch der Annahme, die Milchsäure entstehe aus den Kohlehydraten, nicht entziehen kann. Experimentell hat nun Berlinerblau[22]) zu beweisen versucht, dass die Kohlenhydrate in den Geweben in Milchsäure übergehen können. Schon Gaglio[23]) hatte nachgewiesen, dass die im normalen Blut stets vorhandenen Spuren von Milchsäure bei Durchströmungsversuchen durch die Niere und Lunge vermehrt werden, dass es sich dabei auch wirklich um neugebildete Milchsäure handelt, da aus der Niere selbst nur minimale Spuren dargestellt werden können, Versuche, die später von W. Wissocowitsch[24]) mit demselben Erfolge auf die Leber ausgedehnt wurden. Berlinerblau leitete nun durch die Hinterteile von Kaninchen und Hunden Blut, dem er Dextrose, Glycogen, ferner Propionsäure und Buttersäure zugesetzt; es fand sich, dass schon nach einmaliger Durchleitung die Milchsäuremenge des Blutes um 50% gestiegen war. Er nimmt an, dass das Glycogen zuerst in Dextrose, und dann in Milchsäure übergehe. Dass für diese Durchleitungsversuche nicht postmortale Vorgänge in Betracht kommen, hat Gaglio (l. c.) dadurch bewiesen, dass gefrorene, also abgetötete Lungen nicht mehr im Stande sind, Milchsäure zu bilden und abzugeben.

Dass in meinen Versuchen überhaupt Milchsäure vorhanden ist in nennenswerten Quantitäten, lässt sich erstens leicht durch die Muskelaction der Tiere vor und beim Verbluten erklären. Zweitens kommt noch die Starre hinzu, der doch alle Portionen teils durch das Erwärmen, teils spontan (Vers. IV. Port. E) verfallen sind.

Dass in allen Portionen A und B gleichviel Milchsäure gefunden ist, kann man, glaube ich, trotz der Verunreinigung der einzelnen Teile, wie schon oben erwähnt, annehmen.

Dass nun im Vers. II in den Portionen C und D

(auch in E) so bedeutend mehr Milchsäure gebildet ist, findet seine leichte Erklärung in der Annahme von Salkowski, dass die Milchsäure nur ein Lebensphänomen, kein Absterbephänomen sei. In den Teilen A und B ist die Möglichkeit für den Muskel, noch Lebensäusserungen von sich zu geben, auf ein Minimum beschränkt, resp. gleich null. In A hat das Chloroform seine deletäre Wirkung ausgeübt. B ist möglichst schnell zum Sieden erhitzt. Die Portion D. dagegen ist, ehe sie zum Sieden erhitzt wurde, längere Zeit auf einer für die Lebensäusserung günstigen Temperatur erhalten, C. ist gar nicht bis zum Sieden erhitzt.

Wäre nun die Todtenstarre, d. h. die Contraction beim Absterben, die Ursache für die Milchsäurebildung, so müsste in allen Teilen gleich viel zu finden sein, nach der Angabe von Ranke, jedenfalls dürfte der Unterschied zwischen A-B und C-D nicht so gross sein, da A und B ebensogut dieser Todtenstarre verfallen sind wie C und D. Das Plus in C und D muss also auf Rechnung anderer Vorgänge gesetzt werden, und da ist es wohl am natürlichsten, an eine überlebende Thätigkeit des Muskels zu denken, zumal wenn man die oben erwähnten Versuche von Berlinerblau und Gaglio in Betracht zieht, die ja doch auch zu dem Schluss kamen, dass nur lebendes Gewebe Milchsäure bilde. Es würde also die Säure solange gebildet werden, wie der Muskel noch lebt, d. h. also noch im ersten Stadium der Starre, wo noch eine Restitutio ad integrum möglich ist.

G. Salomon[25]) hat schon vor längerer Zeit constatiert, dass im Leichenblut constant Hypoxanthin vorkomme, im lebenden Aderlassblute fast nie, und dieselbe Beobachtung an Milchsäure gemacht, wenn auch nicht mit gleicher Regelmässigkeit. Er spricht dabei von einer „postmortalen Anhäufung“ der Milchsäure im Blute, die während des Lebens im Muskel gebildet, aber sofort weiter oxydiert werde und erst nach dem Tode Gelegenheit fände, sich anzusammeln. Diese Ansicht stimmt mit unseren Untersuchungen überein — ob die von Salomon noch erwiesene directe Bildung der Milchsäure auch nur während des Ueberlebens des Blutes gebildet wird oder ihre Ent-

stehung einer Art von Gährung der Kohlenhydrate im Blute verdankt, bedürfte eigener, neuer Untersuchungen.

Auch die Portion E unterstützt die Ansicht, dass möglichst lange überlebende Muskeln mehr Milchsäure bilden als schnell der Starre anheimgegebene; kann man also von einer „postmortalen Anhäufung“ der Milchsäure sprechen, so ist eine postmortale Bildung derselben als nicht richtig zu bezeichnen. Lieber wird man die Bildung der Milchsäure als vital und ultravital benennen können, nicht der Tod ist die Ursache der Milchsäurebildung, sondern das Leben des Muskels, sobald dies dahin ist, hört auch die Milchsäurebildung auf, oder, wie Salkowski schreibt: „Der Muskel bildet nicht Milchsäure, weil er abstirbt, sondern weil er lebt, und nur, so lange er lebt; das Absterben setzt der weiteren Milchsäurebildung eine Grenze. Diese Anschauung hebt die Paradoxie auf, die darin liegt, dass ein und dieselbe Säure einerseits bei gesteigerter Leistung gebildet wird, andererseits beim Tode.“

Versuch IV.

Die Leber des in Vers. I benutzten Kaninchens wird unmittelbar nach dem Verbluten fein zerhackt und in 2 Teile zu je 55 gr. geteilt, die genau wie die beiden Muskelportionen in Vers. I behandelt werden. Dabei wird die Portion B etwas länger eingekocht, da durch ein Versehen mehr als die 10fache Quantität Wasser hinzugefügt wurde, — ein Fehler, der sich später in einem Punkte bemerkbar machen wird.

Nach 69stündiger Digestion wurden die Colaturen eingedampft und auf 200 ccm aufgefüllt. A ist vollkommen klar, B milchig trübe. Durch Zusatz von einigen Tropfen Chloroform werden sie vor dem Verderben geschützt.

Es wurden folgende Bestimmungen ausgeführt:

I. Trockenrückstand.

a) 20 ccm von A lieferten 0,491 Trockenrückstand, worin 0,439 Organisches und 0,052 Salze.

b) 20 ccm von B lieferten 0,481 Trockenrückstand, worin

0,431 Organisches und
0,050 Salze.

In der salzsauren Aschenlösung die Gesamtphosphorsäure bestimmt:

Für je 20 ccm A: 0,015 P_2O_5
B: 0,0175 P_2O_5.

II. Zuckerreactionen.

Die Trommersche Probe fällt in A sehr deutlich aus. In B zeigt sich beim Stehenlassen eine gewisse Reduction.

Als nach mehreren Wochen behufs einer Controlle die Trommersche Probe mit dem Auszuge B, der während der Zeit mit Chloroformzusatz bei Zimmertemperatur gestanden hat, wiederholt wird, ergiebt sich die bemerkenswerte Thatsache, dass jetzt auch B sehr deutliche Reduction giebt und das gebildete Cu_2O in reichlicher Menge ausfällt.

III. Bestimmung der in Aether löslichen Substanzen.

Je 150 ccm von A und B werden bis zur Syrupconsistenz eingedampft und genau so behandelt wie die Muskelauszüge bei der Milchsäurebestimmung. (Vers. I, III.)

Die beiden gleich geringen Destillationsrückstände werden nach Trocknen über H_2SO_4 in Wasser mit Zusatz von etwas Natriumcarbonat gelöst und mit HCl angesäuert, dann zum Verdunsten stehen gelassen. Die Rückstände erweisen sich als etwas Fettsäure und hauptsächlich Chloride.

Die wässerigen, mit Aether ausgeschüttelten Rückstände werden mit Barytwasser von der H_3PO_4 befreit; der überschüssige Baryt wird mit CO_2 entfernt, die Flüssigkeiten werden filtriert, eingedampft.

Die eingedampften Extracte werden mit den Alcoholniederschlägen in heissem Wasser gelöst, vereinigt, die vereinigten Flüssigkeiten auf 150 ccm aufgefüllt.

A und B geben beide positive Trommersche Probe.

Bei der Polarisation ergiebt A. eine Drehung nach rechts + 2,2 (im kleinen, 5 cm langen Rohre), zeigt B

trotz 4fachen Verdünnens nur ein ganz schwarzes Gesichtsfeld.

Die quantitativen Ergebnisse waren, für 1000 gr. Leber berechnet:

Aus 1000 gr. Leber sind in Lösung gegangen:	Im Hauptversuch A	Im Controllversuch B	Differenz zwischen A-B (auf A bezogen.)
Organische Substanz	79,81	78,36	+ 1,45
Aschenbestandteile	9,45	9,09	+ 0,36
Gesamtphosphorsäure	2,73	3,18	— 0,45

1) Die gewonnenen quantitativen Resultate stehen mit den von Salkowski gefundenen in einem gewissen Widerspruch. Der Trockenrückstand in A ist nur um 1,45 vermehrt als in B, gegen 12,24 bei Salkowski, die organische Substanz war um 0,36 gegen 0,74, ja die Phosphorsäure zeigt in B ein Plus von 0,45. Wahrscheinlich ist dies auf längeres Kochen zurückzuführen.

2) Bemerkenswert sind die Ergebnisse bei der Prüfung auf Zucker. Dass von vornherein eine ganz geringe Reduction auch in B vorhanden war, also Zucker in der Leber präformiert vorkommt, steht fest und wird wohl auch jetzt von Niemand mehr bestritten. Dass aber der Auszug B, trotz des langen Kochens einfach nach etwas längerem Stehen unter Chloroform bei Zimmertemperatur reichliche Mengen von Zucker enthielt, kam uns sehr unerwartet. Entsprechend zeigten auch die vereinigten Alkoholniederschläge und die mit Aether ausgeschüttelten wässerigen Rückstände sowohl in A als auch in B Reduction und Ausfallen von Cu_2O -- der Versuch war auch erst nach längerem Stehen der Leberauszüge angefangen, während die erste Prüfung auf Zucker bald nach Herstellung der Auszüge angestellt war. Dass die Polarisation bei B kein Ergebnis hatte, lag einfach an der grossen Menge Glycogen, während in A die Glycogen-Jodreaction von vornherein negativ ausgefallen war.

Ueber das spätere Auftreten von Zucker in dem Leberauszuge B sollen noch weiter unten einige genauere Versuche berichtet werden.

Versuch V.

Die Leber des im Versuch II benutzten Hundes wird

fein zerhackt, und in 3 Teile à 180 gr geteilt. Die ersten beiden Portionen A und B werden wie im ersten Leberversuch behandelt. Die dritte Portion C wird mit Chloroformwasser übergossen, fein zerrieben, coliert, die Colatur wird im Kühlen stehen gelassen, damit sich die zelligen Elemente soviel wie möglich absetzen, darauf filtriert. Das Filtrat — es werden, da es sehr langsam filtriert, nur 1135 ccm benutzt — wird mit dem nötigen Chloroform versetzt bei Brüttemperatur 72 Stunden lang digeriert.

A und B werden nach der Digestion wie in Versuch II behandelt, dann auf 360 ccm aufgefüllt und mit einigen Tropfen Chloroform versetzt, um erst 4 Wochen später genauer untersucht zu werden.

In C hat sich nach der Digestion ein reichlicher Niederschlag gebildet. Um den Gang der Untersuchung A und B paralell zu gestalten, wird derselbe nicht erst abfiltriert, sondern es wird die Flüssigkeit erst aufgekocht, dann erst filtriert — der Filterrückstand wird unter Alkohol aufbewahrt — das Filtrat eingedampft und auf 300 ccm aufgefüllt, und mit einigen Tropfen Chloroform ebenfalls vorm Verderben geschützt.

Die Auszüge von A und B sehen bernsteingelb, klar aus, B ist weisslich getrübt.

1. Zuckerreactionen: Trommersche Probe: in allen 3 Flüssigkeiten positiv, am deutlichsten in B; in A und C wird sie durch reichliche Pepton- und Albumosenbildung verdeckt.

2. Glycogenreaction ist in allen 3 Portionen undeutlich. Daher werden je 50 ccm mit Alkohol gefüllt, die Alkoholfüllungen nach der Brückeschen Methode weiter behandelt, d. h. abwechselnd mit Quecksilberjodidjodkalium und Salzsäure versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert, das Filtrat mit Alkohol gefällt. In A fällt ein ganz geringer, in B ein ziemlich reichlicher, in C gar kein Niederschlag aus.

Der abfiltrierte Niederschlag in B ergiebt aber auch jetzt keine Glycogen-Jodreaction.

Die Filtrate der Alkoholfüllungen werden von Alkohol befreit, eingedampft und in Wasser gelöst: Alle 3 Lösungen zeigen Zuckerreaction.

3. Je 200 ccm der Leberauszüge werden mit je 50 ccm H_2SO_4 destilliert.

Je 100 ccm des Destillates werden mit Normallauge filtriert: schon nach einem Tropfen tritt Rotfärbung ein.

Säuren sind also nur in geringem Masse übergegangen, von einem quantitativen Unterschiede der Säurebildung bei den verschiedenen Behandlungsweisen der Leber kann gar keine Rede sein.

Die Reste der Destillate werden eingedampft: Die weissen amorphen Rückstände sind alle in concent. H_2SO_4 löslich, unter Entwickelung eines Buttersäuregeruches, der bei A am intensivsten, bei B am schwächsten hervortritt.

Die Destillationsrückstände werden auf 250 ccm aufgefüllt, und je 25 ccm davon nach Kieldahl auf N untersucht. Diese enthalten bei

A 0,0826 gr N
B 0,0532 gr N
C 0,0542 gr N

oder gleich für 1000 gr Leber berechnet

A 8,26 gr N
B 5,32 gr N
C 6,66 gr N

Der unter Alkohol aufbewahrte Filterrückstand von C wird in Wasser unter Zusatz von etwas Na_2CO_3 verrieben und bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann filtriert. Das Filtrat giebt mit Essigsäure keinen Niederschlag. Der Filterrückstand wird mit Verdauungsflüssigkeit verrieben und bei 38—40° digeriert: nach 24 Stunden ist die gesamte Menge vollkommen gelöst. Einige ungelöste Flocken erweisen sich als Fasern vom Filtrierpapier. Die Lösung zeigt starke Biuretreaction.

Der Zweck dieses Versuches war, zu untersuchen, ob gelöste Fermente die Ursache der bei der Autodigestion eingetretenen Veränderungen sind. Es wurde deshalb die dritte Portion möglichst von zelligen Bestandteilen befreit, — unter dem Mikroskop fand sich nur nach Durchsuchung vieler Gesichtsfelder eine Leberzelle — und wurde so, man kann sagen zellenfrei, digeriert. Da das Filtrieren des

III. Teiles sehr langsam von statten ging, wurde Sorge getragen, dass weder die Fermente noch die Zellen, soweit sie überhaupt noch lebend waren, ihr Temperaturoptimum hatten: es wurde die Filtration teilweise am kalten Fenster, teilweise sogar in der kalten Luft vor dem Fenster vorgenommen. Wir glauben also jede vorherige Einwirkung etwa nicht lösslicher Fermente ausschliessen zu können.

Dass nun doch dieselben Veränderungen auch in diesen blossen Leberauszügen vorsichgegangen sind während der Autodigestion, spricht wohl mit Entschiedenheit dafür, dass es gelöste Fermente, sogenannte Enzyme sind, welche diese Wirkungen ausüben. Für die Zuckerbildung bestätigt dies die allgemeine Ansicht, im Gegensatz zu Dastre[26]), Florence Eves[27]) und Foster[28]), welche die rasche Zuckerbildung in der absterbenden sowohl als auch in der lebenden Leber nicht auf der Thätigkeit einer Diastase sondern auf einer in anderer Weise wirkenden Thätigkeit des Protoplasmas der Leberzellen beruhend ansehen.

Besonders wichtig erscheint mir noch der Destillationsversuch zu sein, dass in keiner der 3 Portionen Säure in nennenswerter Quantität gebildet wird.

Um die Bildung von Zucker in der frisch gekochten Leber näher zu untersuchen, wurden noch folgende Versuche angestellt:

Versuch VI.

Die Leber des im Versuch X (Controllversuch II) benutzten Kaninchens wird, sofort nach dem Verbluten von den grossen Gallengängen und der Gallenblase befreit, in 2 Teile zu je 26,5 gr geteilt, und diese als Hauptversuch A und Controllversuch B nach Versuch II behandelt.

1. Sofort nach dem Auffüllen auf 100 ccm werden die beiden Portionen auf Zucker untersucht:

a) A sowohl wie B zeigen Reduction, bei B fallen jedoch erst nach langem Stehen einige wenige Spuren von Cu_2O aus.

b) 10 ccm von B. werden mit Alkohol absolutus

gefällt, filtriert, der Alkohol verjagt, mit dem Rückstand wird die Trommersche Probe angestellt: positiv.

2. Glycogenreaction:

in A negativ,

in B positiv.

Die noch vorhandenen Reste der Auszüge werden mit Chloroform versetzt, stehen gelassen. Nach 3 Wochen wieder untersucht zeigte auch der Controllversuch B starke Trommersche Probe.

Es hat sich also auch hier wieder in dem gekochten Leberauszuge Zucker gebildet resp. der von Anfang an vorhanden gewesene Zucker sich bedeutend vermehrt.

Um die Bildung von Zucker während der kurzen Zeit des Zerhackens und des Kochens auf das geringste Mass zu beschränken, wird eine andere Kaninchenleber folgendermassen verarbeitet:

Versuch VII.

Die Leber des in Versuch X, Controllversuch III benutzten Kaninchens wird sofort nach dem Verbluten in siedendes Wasser hinein zerschnitten, aufgekocht, dann in der Reibschale verrieben, und nochmals aufgekocht. Ein kleiner Teil (I) wird abfiltriert, der Hauptteil (II) wird in desinficierter Flasche nach Chloroformzusatz bei 40—42 Grad digeriert. Teil I wird sofort auf Zucker untersucht, mit NaOH und $CuSO_4$: Leichte Reduction tritt ein, beim Stehenlassen ganz geringe Ausscheidung von Cu_2O. Teil II wird nach 72stündiger Digestion stehen gelassen. Ein kleiner Teil wird sofort abfiltriert, vom Chloroform durch Aufkochen befreit, und nach Trommer auf Zucker untersucht:

Dasselbe Resultat wie in Teil I. Nach einigen Wochen wird wieder die Trommersche Probe angestellt, welche diesmal, wie erwartet wurde, stark positiv ausfiel.

Diese Thatsache, dass in unmittelbar nach dem Töten der Tiere gekochter Leber bei längerem Stehen unter Chloroformzusatz bedeutende Quantitäten Zucker entstehen, während zuerst nur minimale Spuren von Zucker nachweisbar waren, steht der wohl ziemlich allgemein herrschenden Meinung über die Zuckerbildung als einen

enzymatischen Process in gewissem Widerspruch. Die Wirksamkeit der Enzyme wird nach allgemeiner Annahme meist schon bei unter dem Siedepunkt des Wassers liegenden Temperaturen (60 Grad v. Paschutin[29]) aufgehoben. Es dürfte also in einem gekochten Leberauszuge keine Vermehrung der ursprünglichen Zuckerspuren eintreten, da ja das diastatische Ferment in dem Auszuge abgetötet sein soll. Um so auffallender ist die lebhafte Zuckerbildung in unseren Versuchen. Dass das zum Zweck der Sterilisierung zugesetzte Chloroform keinen Einfluss dabei gehabt hat, wurde an mehreren Controllversuchen gezeigt: Glycogenlösungen, ca. $^1/_2$ pCt., sowohl in destilliertem Wasser als auch in ca. 0,6 pCt. NaCl-Loesung unter Chloroformzusatz bei Zimmer- und Brüttemperatur stehen gelassen, zeigten auch nach wochenlangem Stehen keine Zuckerreaction.

Nun haben schon früher Abeles[30]) 1876 und J. Seegen und Kratschmer[31]) 1877 dieselbe Thatsache mitgeteilt, Angaben, die wunderbarer Weise in den Lehrbüchern keine Erwähnung gefunden haben.

Abeles fand in vollständig zerkochtem Leberbrei, nachdem derselbe über Nacht bei 10 Grad C. gestanden hatte, reichliche Zuckermengen. Diese Thatsache lässt sich nur durch die Annahme erklären, dass beim Erkalten die durch die Siedehitze nur unterbrochene Wirksamkeit des Fermentes sich wiederherstellt, was seiner Meinung nach sehr unwahrscheinlich ist, oder dass das Ferment sich in der erkalteten Masse frisch entwickelt. Das nach der Erlenmeyer'schen Methode aus der zerhackten Leber isolierte Ferment saccharificierte Loesungen von ganz reinem Glycogen in 12—24 h vollständig.

Seegen und Kratschmer wandte sich gegen die Auffassung von Abeles, dass eine Neubildung des diastatischen Fermentes in den Leberauszügen eingetreten sei, da in ihren Versuchen „das Leberdecoct nach der Abkochung nicht weiter mit der Leber in Berührung gewesen war."

Um die Berechtigung der anderen Annahme von Abeles, dass das Leberferment nicht vernichtet, nur lahm gelegt sei und später wieder reactiviert seine Wirkung äussern könne, zu prüfen, kochten sie Glycogenlösungen

mit Speichel und Glycerinpancreasextracten und konnten hier keine Zuckerbildung beobachten. Im Anschluss an Beobachtungen von v. Wittich[32]) und Lepine[33]), welche in vielen tierischen Geweben eine saccharificierende Substanz gefunden hatten, und welche die beiden Autoren auch für gekochte Organe bestätigen konnten, lenkte sich ihr Verdacht auf die Eiweisskörper, welche allen von ihnen untersuchten Organen gemeinsam waren, und stellten nun Versuche an, wie reine Eiweisskörper auf Glycogenlösungen wirkten.

Sie fanden, dass sowohl chemisch-reines Serumeiweiss als auch Eieralbumin und Casein die Umwandlung von Glycogen in Zucker bewirken könne, sofern nur minimale Spuren der Eiweisskörper in Lösung gegangen waren, während Fibrin, vollständig unlöslich in Wasser, keine saccharificierende Eigenschaften zeigte. Sie kommen zu dem Schluss, dass „alle Eiweisskörper, welche entweder ganz oder auch nur teilweise im Wasser löslich sind, die Fähigkeit besitzen, bei kürzerer oder längerer Berührung mit Glycogen eine saccharificierende Wirkung zu üben.

Durch Kochen der den Eiweisskörper enthaltenden Flüssigkeit wird die diastatische Wirkung momentan sistiert, tritt aber nach 2—3 Tagen wieder auf."

Um diese Angaben zu controllieren, stellte ich nun ebenfalls ähnliche Versuche mit coaguliertem Eieralbumin an, welches ich mir zu jedem Versuche frisch coagulierte: Hühnereiweiss, in doppelter Quantität destillierten Wassers aufgenommen, wird mit einigen Tropfen HCl genau neutralisiert, die niedergefallenen Globuline werden abfiltriert, das Filtrat dann in die mehrfache Quantität siedenden Wassers eingeschüttet, aus dem es sich dann als schneeweisser Niederschlag abfiltrieren lässt.

Dass dieser keinen Zucker enthält, bedarf eigentlich nicht der Erwähnung.

Verschiedenen Glycogenlösungen wurde ein derartiges Albumin hinzugefügt, zugleich wurden sie aber auch, zwecks Sterilisierung nach Laboratoriumsgewohnheit mit einigen Tropfen Chloroform versetzt: das Resultat war trotz wochenlangen Stehens stets negativ — es hatte sich auch keine Spur von Zucker gebildet. Da Seegen und Kratsch-

mer in ihren Versuchen keine Desinficientien zu den Lösungen gethan haben, so wurde eine weitere Glycogenlösung mit Eieralbumin ebenfalls ohne Chloroformzusatz in verschlossener Flasche stehen gelassen: sehr bald konnte man deutliche Zuckerreaction erhalten, die sich nach längerem Stehen immer schöner gestaltete. In sterilen Lösungen bringt also Eieralbumin keine Zuckerbildung zu Stande — es wurden deshalb Versuche angestellt, wie es sich mit der Löslichkeit des Eiweiss in chloroformhaltigem Wasser verhalte. Frisch bereitetes, coaguliertes Eieralbumin wird in mit Chloroform versetztem sterilisiertem Wasser suspendiert, kräftig und wiederholt durchgeschüttelt, dann filtriert: das Filtrat zeigte auch nach wochenlangem Stehen, weder vor noch nach Entfernung des Chloroforms die geringste Trübung nach Kochen und Säurezusatz. Auch andere Eiweissreactionen blieben resultatlos. Dagegen konnte man, wenn man Eiweiss mit Wasser in verschlossener Flasche ohne Sterilisierung hatte stehen lassen, im Filtrat eine, wenn auch schwache Trübung wahrnehmen. Das Chloroform hat also eine, die Lösung des Eiweiss hemmende Wirkung. Ich glaube nun, dass man diese Wirkung seiner stark atibacteriellen Eigenschaft zuschreiben muss. Wurde von der Glycogen- und der Eiweisslösung, die ohne Chloroform gestanden hatten, auf Nährgelatine im Reagenzglas übergeimpft, so trat lebhaftes Wachstum von Bacterien ein, während Chloroformzusatz vollkommen sterilisiert.

Seegen und Kratschmer haben in allen ihren Versuchen ohne derartige antibacterielle Cautelen operiert, woraus ihnen übrigens selbstverständlich kein Vorwurf gemacht werden kann. Es ist nun denkbar, dass die Bacterien es sind, welche die Lösung des Eiweisses bedingen, und dadurch dann die Zuckerbildung indirect veranlassen. Es ist aber auch ebenso denkbar und für mich wahrscheinlicher, dass die Bacterien direct an der Zuckerbildung beteiligt sind. Wortmann[34], A. Pick[35], Fermi[36] schreiben über diastatische Wirkungen von Bacterien; Schimmelpilze und verschiedene Spaltpilze haben ein kräftig diastatisches Ferment. Ich glaube bestimmt, dass bei der lebhaften Entwicklung der Stichculturen man die Wirk-

samkeit der Bacterien in den genannten Lösungen nicht von der Hand weisen kann. Für diese Auffassung spricht auch der Umstand, dass, je länger die Lösungen standen, desto stärker die Reduction eintrat, dass das Casein in den Versuchen von Seegen und Kratschmer, nachdem es einige Monate lang aufbewahrt, und wahrscheinlich dadurch nicht gerade steril geworden war, viel energischer wirkte, dass, nachdem die Eiweisslösungen gekocht waren, erst nach mehreren Tagen eine diastatische Wirkung nachzuweisen war. Dass die Löslichkeit des Eiweisses eine gewisse Rolle trotzdem spielt, möchte ich aus der Angabe von Fermi schliessen, dass in eiweiss- und peptonfreien Lösungen keine diastatischen Fermente von den Spaltpilzen gebildet werden.

Da die Fermentbildung der Bacterien von 4°—50°, möglich ist, so ist auch, sollten die Seegen-Kratschmerschen Versuche bei niederen Temperaturen angestellt sein, doch eine bacterielle Wirkung nicht von der Hand zu weisen.

Ich halte also diese Versuche für durchaus nicht beweisend dafür, dass wirklich jedes Eiweiss saccharificierende Eigenschaften besitzt, solange es nicht erwiesen ist, dass jede andere Möglichkeit der Zuckerbildung ausgeschlossen ist. In sterilen Lösungen tritt keine Zuckerbildung auf, meine Leberauszüge waren aber ebenfalls steril und trotzdem wurde sehr reichlich Zucker gebildet. Man muss also doch wieder auf die beiden Annahmen von Abeles zurückkommen. Dass die Wirksamkeit der Fermente durch die Siedehitze nur unterbrochen sei, scheint auch mir sehr unwahrscheinlich; so glaube ich auch, eine Neubildung des Leberfermentes aus den mit in Lösung gegangenen Stoffen der Leber annehmen zu müssen.

Versuch VIII.

Die Leber des im Versuch III benutzten Hundes wird fein zerhackt, in 3 Teile zu je 200 resp. 180 gr. geteilt, und folgendermassen behandelt:

B. 200 gr wie B in Versuch II.

A. I. 200 gr wie A in Vers. II.

II. 180 gr werden mit 4 ccm Na_2CO_3 versetzt, Reaction stark alkalisch, darauf wie I behandelt.

Nach nur 22stündiger Digestion werden A I und II einige Minuten gekocht, B nochmals gelinde erhitzt; alle Portionen werden darauf coliert, eingedampft, filtriert. In A II scheiden sich bei weiterem Eindampfen Xanthinkörper aus, sie werden durch Zusatz von einigen Tropfen NaOH wieder vollständig in Lösung gebracht; der Gleichheit halber wird zu A I ebenfalls etwas NaOH hinzugefügt; beide werden dann auf 250 ccm aufgefüllt. B wird nur auf 200 ccm aufgefüllt.

Von A I und II werden je 10 ccm, von B 20 ccm nach Kieldahl auf N untersucht; die Verbrennung ist in allen 3 Portionen äusserst stürmisch, und nur mit grösster Vorsicht ohne Verluste zu bewerkstelligen. Es wurden daher die Bestimmungen doppelt ausgeführt: die Resultate stimmten — innerhalb der unvermeidlichen Fehlergrenzen — vollkommen überein.

Die Ergebnisse waren folgende:

A I in den 10 ccm waren 0,0826 gr N.
II in den 10 ccm waren 0,049 gr N.
B in den 20 ccm waren 0,056 gr N enthalten.

Für 1000 gr Leber umgerechnet ergiebt dies (die genauere Berechnung siehe in den analytischen Belägen):

A I: 10,325 gr N aus 1000 gr Leber
II: 6,75 gr N „ „ „
B: 2,80 gr N „ „ „

Der Frage, ob Alkalisierung vielleicht eine umfangreichere Spaltung oder eine andere Richtung derselben herbeiführe, sollte mit diesem Versuche näher getreten werden. Es zeigt sich nun, dass es nicht der Fall ist, im Gegenteil, es ist in der nicht alcklisierten Portion bedeutend mehr N in Lösung gegangen als in der alkalisierten. Allerdings war die Reaction nach Zusatz von 4 ccm Na_2CO_3 stark alkalisch, wenngleich die Reaction des Blutes auch ziemlich stark alkalisch ist, und meist zu gering angeschlagen wird. Es wurde jedoch noch der folgende Versuch angestellt, um zu sehen, ob geringere Alkalescenz der Mischungen einen anderen Einfluss hat, als die starke.

Versuch IX.

Die Leber des im Controllversuch III (Vers. X) getöteten Kaninchens wird sofort nach dem Verbluten zerhackt. 2 Portionen zu je 40 gr werden abgewogen, je mit 400 ccm Chloroformwasser übergossen, und zu einer (II) 1 ccm Na_2CO_3 hinzugefügt: Reaction leicht alkalisch. Nach 24stündiger Digestion werden beide Portionen gekocht, coliert, ausgepresst, eingedampft und I auf 50, II auf 60 ccm aufgefüllt.

Je 10 ccm werden wieder nach Kieldahl auf N untersucht.

I. in 10 ccm sind 0,0266 gr N.
II. in 10 ccm sind 0,021 gr N enthalten.

Für 1000 gr Leber berechnet:

I. 3,33 gr N sind aus 1000 gr Leber in Lösung gegangen.
II. 315, gr N „ „ „ „ „ „ „ „

Also auch hier ist in dem alkalisierten Leberauszuge weniger N enthalten gewesen als in dem neutralen. — Allerdings ist der Unterschied zwischen beiden Portionen nicht so gross: es scheint also die Alkalescens auf das Enzym einen proportional ihrer Stärke hemmenden Einfluss auszuüben. Den Controllversuch B glaubten wir uns hierbei sparen zu können, da eine Vermehrung des N in A gegenüber B durch frühere Versuche feststeht, und der beträchtliche Unterschied zwischen A II und B im vorigen Versuch auch die Vermutung zurückweist, es könnte die Alkalisierung einen solchen hemmenden Einfluss auf die Fermente ausüben, dass auch in A II weniger N als in B in Lösung ginge.

Versuch X.

700 gr Kaninchenmuskeln, die schon ca. 1 Jahr unter 2200 ccm Chloroformwasser gestanden haben, werden mit 7000 ccm Chloroformwasser 48 Stunden bei Brüttemperatur digeriert, durch Leinwand coliert, durch Erhitzen zum Sieden vom Eiweiss befreit, filtriert, stark eingedampft. Nach nochmaligem Filtrieren beträgt die Flüssigkeit ca. 1300 ccm. Diese wurde in 2 Hälften mit Bleiessig gefällt, filtriert, aus dem Filtrat wird das Blei mit H_2S entfernt, das gebildete PbS abfiltriert, die beiden

Filtrate vereinigt und stark eingeengt. Die syrupöse Masse wird zum weiteren Trocknen ruhig stehen gelassen. Darauf wird sie mit Wasser angefeuchtet auf einem Thontelle(a) ausgebreitet, nach 24 Stunden abgenommen, in Wasser gelöst, mit Knochenkohle entfärbt, filtriert, das Filtrat wird stehen gelassen.

Die ausgeschiedenen Krystalle werden abfiltriert, auf dem Filter über H_2SO_4 getrocknet; sie erweisen sich unter dem Mikroskop nicht als Kraetin, sondern als Tyrosin.

Das Filtrat hiervon wird mit dem Waschwasser des Knochenkohlefiltrums vereinigt, eingedampft — unzweifelhafte Leucinausscheidung. Das Leucin wird abfiltriert, das eingedampfte Filtrat auf einen zweiten Thontelle(b) getrocknet. Nach 24 Stunden wird die Masse abgenommen, mit dem Leucin auf dem Filter vereinigt und bei 100—110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet.

Das gewonnene Tyrosin wird ebenfalls, zwischen Uhrgläschen getrocknet.

Der Thonteller a wird einige Stunden lang ausgekocht, der Extract eingedampft, auf 100 ccm aufgefüllt.

Der Thonteller b wird ebenfalls ausgekocht, der Extract eingedampft, der Rückstand wieder in Wasser gelöst, auf 50 ccm aufgefüllt.

Beide Extracte, mit Knochenkohle entfärbt, zeigen, auf Albumose und Pepton untersucht, keine positive Biuretreaction.

Folgende quantitativen Bestimmungen wurden noch ausgeführt:

1. Das Gewicht des getrockneten Leucins beträgt 2,0717 gr. Zum Nachweis der Identität werden davon 0,6235 gr auf N nach Kieldahl untersucht: ergeben 0,0658 gr N = 10,3 %. (Berechnet beträgt der N-Gehalt des Leucins 10,69 %).

In 2,0717 gr Leucin sind danach 0,2138 gr N.

2. 10 ccm des Extractes vom Thonteller a werden nach Kieldahl auf N untersucht; sie enthalten 0,2114 gr N. In 100 ccm also 2114 gr N.

3. 10 ccm des Extractes vom Thonteller b werden nach Kiehldahl untersucht; sie enthalten 0,1456 gr N. In 50 ccm also 0,728 gr N.

4. Das Gewicht des getrockneten Tyrosins beträgt 0,248. Die Identität mit Tyrosin wird ausser durch das Mikroskop noch durch die Hofmann'sche Probe (mit Millons Reagenz) erwiesen. Tyrosin enthält 7,74 % N. 0,248 gr Tyrosin enthalten also 0,0192 gr M.

Diese 4 Posten machen den ganzen bei dem Process des langen Stehens und der Autodigestion in Lösung gegangenen Stickstoffes aus:

1. 0,2138
2. 2,1140
3. 0,7280
4. 0,0192

3,0750 gr N in 700 gr Muskel,
oder 4,391 gr N in 1000 gr Muskel.

Die noch übrigen Reste von a und b (je 65 resp. 15 ccm) werden vereinigt und mit Ammoniak und $AgNO_3$ versetzt: reichliche Xanthinausscheidung. Dasselbe wird auf gewogenem Filter gesammelt und getrocknet: 0,6325 salpetersaures Xanthinsilber. Auf Hypoxanthin berechnet 0,2325 Hypoxanthinsilbernitrat.

Auf 1000 gr Muskel umgerechnet beträgt die bei der Autodigestion in Lösung gegangene Menge der Xanthinkörper:

1,6699 gr salpeters. Xanthinsilber,
0,7564 gr Hypoxanthin.

Das Filtrat der Xanthinausscheidung wird mit Säure gekocht — keine Xanthinausscheidung; es ist also alles Hypoxanthin in manifester Form vorhanden gewesen.

1. Die Menge des Hypoxanthin steht mit derjenigen, die Salkowski gefunden, in gutem Einklang. Hier 0,756 — dort 0,722 und 0, 773, auf 1000 gr Muskel, die Unterschiede sind so gering, dass sie garnicht in Betracht kommen.

2. Interessant sind die Verhältnisse mit den in Lösung gegangenen Extractivstoffen. Von Kreatin, auf dessen Darstellung der Versuch eigentlich ausging, war auch keine Spur zu entdecken. Statt dessen traten Leucin und Tyrosin auf, welche durchaus nicht zu den regelmässigen Extractivstoffen der Muskeln gehören, sondern gewöhnlich nur bei der Trypsinverdauung, beim Sieden mit

Alkalien und Säuren der Proteinstoffe, sowie bei der Fäulnis entstehen.

Weder der eine, noch der andere Grund liegt hier für die Entstehung der genannten Stoffe vor, fehlt doch jede Spur von Biuretreaction, sowohl in diesen Versuchen, als auch in den beiden Autodigestionsversuchen, die Salkowski mit Muskeln angestellt.

Es muss also ein besonderes Ferment sein, welches sehr langsam eine Eiweiss zersetzende Wirkung ausübt: hier bei dem langen Stehen der Muskeln ist seine Wirkung nachweisbar, während bei den kurzen Autodigestionsversuchen die Zeit nicht genügt hat, das Enzym zur Wirkung kommen zu lassen.

Um nun die Lösungsverhältnisse der Extractivstoffe des Muskels beim Digerieren und Kochen vergleichen zu können, wurden noch folgende Versuche mit Kaninchenmuskeln angestellt:

I. Controllversuch.

510 gr frische Kaninchenmuskeln (vom Kaninchen im Versuch VI) werden fein zerhackt, mit 1,5 l Wasser bei 50—60° 3 Stunden lang digeriert: aufgekocht, coliert; der Rückstand wird ausgepresst, nochmals aufgekocht, wieder coliert und ausgepresst.

Die vereinigten Colaturen werden eingedampft, vom geronnenen Fett abfiltriert, das Filtrat weiter eingedampft, auf 250 ccm aufgefüllt und nochmals filtriert. 10 ccm hiervon wurden nach Kieldahl untersucht:

In 10 ccm sind 0,1008 gr M enthalten.

Auf 1000 gr Muskel umgerechnet

4,901 gr N

II. Controllversuch.

Die Muskeln eines soeben durch Verbluten getöteten Kaninchens (vom Vers. VII) werden fein zerhackt, (450 gr) mit 1000 gr Wasser bei 50—60° cr. 1 Stunde lang digeriert, coliert, die Colatur enteiweisst, filtriert, eingedampft, auf 250 ccm aufgefüllt, nochmals filtriert.

10 ccm hiervon werden nach Kieldahl auf N untersucht.

In 10 ccm sind 0,063 gr N enthalten. Auf 1000 gr Muskel umgerechnet: 3,5 gr N.

III. Controllversuch.

300 gr Muskelfleisch eines frisch geschlachteten Kaninchens (vom Vers. IX) wurden fein zerhackt, und mit 2000 ccm Wasser cr. $^3/_4$ Stunden lang gekocht. Darauf coliert, ausgepresst, eingedampft, filtriert, auf 300 ccm aufgefüllt. 20 ccm hiervon werden nach Kieldahl auf N untersucht:

0,0574 gr N in 20 ccm.

Auf 1000 gr Muskel umgerechnet:

2,87 gr N.

N-Gehalt, auf 1000 gr Kaninchenmuskel berechnet:

1. Nach langem Stehen unter $CHCl_3$, Autodigestion, Colieren, dann erst enteiweisst 4,391
2. nach $^3/_4$ stündiger Digestion, Kochen, Colieren. 4,901
3. nach $^3/_4$ stündiger Digestion, Colieren, Kochen 3,5
4. nach blossem $^3/_4$ stündigen Kochen, Colieren 2,87

Nimmt man einen Durchschnittsgehalt des Fleisches an N von 3,4 gr (Hammarsten), so ist in den 700 gr 12,9% N in Lösung gegangen, während im I. Controllversuch, wo das Fleisch digeriert und gekocht wurde 14,41% N enthalten sind. In dem Auszuge aus nur digeriertem Fleisch fanden sich 10,4%, in dem aus nur gekochtem Fleische 8,3% N, also 2% weniger, eine Thatsache, welche bei Bereitung des englischen beef-tea praktische Verwertung findet.

Versuch XI.

In der Einleitung habe ich schon gesagt, dass die Oxydationen im tierischen Organismus nicht in den Säften, Blut und Lymphe verlaufen, wie früher angenommen wurde, sondern dass sie an die Zelle gebunden seien.

Experimentell haben namentlich Ludwig und Schmid[37])

ferner Bunge und Schmiedeberg[38]) die oxydierende Fähigkeit der Gewebe bei Gegenwart von Blut festgestellt, während Blut allein im allgemeinen keine oxydierenden Eigenschaften besitzt. Unter besonderen Bedingungen bei gleichzeitiger Steigerung aller die Oxydation begünstigenden Bedingungen entfaltet jedoch auch das Blut seine oxydierende Wirkung, wie Salkowski[39]) im Jahre 1882 bewiesen hat. Durch Verstäuben des Blutes, einer mit grossen Unzuträglichkeiten für die Umgebung verbundenen Versuchsanordnung, wodurch Gelegenheit für eine möglichste Vergrösserung der Oberfläche des Blutes und eine fortwährende Erneuerung des Sauerstoffes gegeben wird, gelang es, Salicylaldehyd cr. 2 ccm dem Blute zugesetzt, zu oxydieren, und die dabei erhaltenen Quantitäten Salicylsäure waren durchaus nicht gering, z. B. in einem Versuch 0,167 gr Salicylsäure. Controllversuche zeigten, dass das Blut bei dieser Oxydation nicht entbehrt werden könne und Salkowski schliesst daraus, das die Blutkörperchen resp. das Hämoglobin, also das zellige Material des Blutes eine Rolle bei der Oxydation, spiele. Dass die Zellen, um Oxydationen hervorrufen zu können, lebend sein müssten, wurde als selbstverständlich angenommen.

In jüngster Zeit hat nun Jaquet[40]) in Strassburg gezeigt, dass nicht nur lebendes Gewebe diese Eigenschaft zeigt, sondern dass auch nach dem Absterben durch Carbol, Alcohol, Erfrieren dem Gewebe diese Eigenschaft bleibt. Ja, nicht nur bei Gegenwart der Zellen kommen Oxydationen zu Stande, sondern sogar der von den festen Bestandteilen befreite Auszug der Gewebe hatte dieselbe Wirkung; selbst die aus erhärteten Geweben gewonnenen und von Gewebsbestandteilen befreiten Auszüge zeigten dieselbe oxydierende Eigenschaft. Da aber nach Erhitzen zum Sieden derartigen Auszügen diese Eigenschaft verloren geht, so schliesst Jaquet mit vollem Rechte, „dass die Oxydation im Tierkörper unter dem Einflusse eines Fermentes oder Enzymes zu Stande kommt.“ Er schreibt diesem Fermente die gleiche Bedeutung zu, welche die Wärme bei Oxydierungsvorgängen ausserhalb des Körpers habe, wie ich schon oben ja auch die Wirksamkeit der hydrolytischen Fermente mit der der Wärme oder anderer

chemischer Agentien, welche ausserhalb des Körpers derartige Spaltungen vermitteln, verglichen habe. „So besteht," sagt Jaquet, „ein Gegensatz zwischen der Wirkung dieses oxydierenden Fermentes und der übrigen sogenannten katalytischen Fermente nicht, denn es handelt sich, wie Schmiedeberg[41]) nachgewiesen hat, auch bei der Oxydation um eine Lockerung von H-Atomen, um ein Abreissen derselben von den C-Atomen, an denen sie haften".

Diese Ergebnisse der Jaquetschen Untersuchungen sind jedenfalls überraschend und fordern zu weiteren Versuchen dringend auf. Nachfolgende 3 Versuche wurden nach derselben Anordnung ausgeführt, wie sie Jaquet angewandt hat.

1. Die Lungen des Hundes vom Vers. III werden in kleine Stücke geschnitten, 14 Tage lang mit 96 pCt. Alkohol stehen gelassen, dann coliert, ausgepresst, fein zerhackt, der noch vorhandene Alkohol durch Liegenlassen verdunstet; darauf mit ca. ½ l 1 pCt. NaCl-Lösung extrahiert p. 12 h. Coliert, ausgepresst, filtriert (sehr langsam), mit 1 gr Salicylaldehyd versetzt, und nun p. $4^1{}_2$ h. 3 mal an der Wand einer ca. 2 m langen Glasröhre tropfenweise hinablaufen gelassen. Darauf eingedampft, filtriert, mit Alkohol gefällt, der Alkohol verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst, mit H_2SO_4 angesäuert, mit Aether ausgeschüttelt, destilliert, der Rückstand in Aether aufgenommen, dieser an der Luft verdunstet. Der Rückstand in Wasser unter Zusatz von etwas Na_2CO_3 gelöst, filtriert, eingeengt, mit HCl angesäuert, — 24 h stehen gelassen. Der entstandene Niederschlag zeigt unter dem Mikroskop nicht das Aussehen von Salicylsäure. Daher nochmals in etwas Aether geschüttelt, der Aether verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst, und hiermit die sehr empfindliche Fe_2Cl_6-Reaction angestellt: negativ.

2. Die beiden Nieren genau ebenso behandelt ergeben am Schluss auf Fe_2Cl_6 Zusatz eine minimale Violettfärbung. Spuren von Salicylsäure sind also hier gebildet.

3. Cr. 300 gr. Muskulatur, fein zerhackt, ergeben, ebenso behandelt, ein negatives Resultat: keine Salicylsäurereaction.

Die von Jaquet's Ergebnissen ziemlich abweichen-

den Resultate finden ihre leichte Erklärung in der nicht ganz mit ihm übereinstimmenden Behandlungsweise beim Erhärten der Organe.

Während Jaquet die zu den entsprechenden Versuchen (Vers. 23—25) benutzten Pferdenieren nur zwei Stunden mit 80 proc. Alkohol behandelt, ausgepresst und mit absolutem Alkohol ausgewaschen hat, haben in meinen Versuchen die Organe ca. 14 Tage mit 96 proc. Alkohol gestanden. Eine derartige, starke Behandlung scheint das Enzym nicht vertragen zu können, wie Lunge und Muskeln zeigen. Dass trotzdem in den Nieren, wenn auch nur Spuren von Salicylsäure haben nachgewiesen werden können, spricht aber mit Entschiedenheit für die Wirkung eines Fermentes, welches in den Nieren wohl in grösserer Concentration vorhanden sein mag als in den übrigen Körperteilen, sodass noch ein Teil desselben der bei längerer Dauer deletären Wirkung des 96 proc. Alkohols entgangen ist. Uebrigens bin ich autorisiert, hier kurz mitzuteilen, dass in weiteren Versuchen in demselben Laboratorium, die später publiciert werden sollen, sich die Angabe von Jaquet im wesentlichen bestätigt hat.

Schon früher sind Angaben gemacht über intracelluläre Verdauungsvorgänge, ähnlich, wie sie in Salkowski's und meinen Versuchen zu Tage treten. Schützenberger [42]) hat grosse Quantitäten gewaschener Bierhefe nach 24stündiger Digestion in der Wärme einer sorgfältigen Analyse unterworfen. Es gelang ihm, eine ganze Reihe von krystallinischen in der frischen Hefe nicht vorhandenen Körpern, nämlich Tyrosin, Leucin, Xanthin, Hypoxanthin, Guanin und Carnin nachzuweisen und darzustellen. Ausdrücklich wird betont, dass der ganze Process ohne jeden üblen Geruch verläuft und daher mit der Fäulnis nichts zu thun haben kann.

Einige Jahre später gelang es Schmiedeberg [43]) in der Niere und dem Blute von Schweinen, sowie namentlich aus der Hundeleber ein Enzym zu extrahieren, welches er als Histozym bezeichnete. Dieses ungeformte Ferment besitzt die Fähigkeit, Fette und andere ätherartige Verbindungen unter Hydratation zu spalten. Namentlich zer-

legt es mit Leichtigkeit Hippursäure in Benzoesäure und Glycocoll, während diese beiden Paarlinge mit Blut durch eine überlebende Schweineniere geleitet, sich wieder zu Hippursäure vereinigten. Er schloss daraus, dass Bildung sowohl als Spaltung der Hippursäure gleichzeitig und unabhängig von einander in den Geweben vor sich gehen könne.

Neumeister wendet sich nun in seinem jüngst erschienenen Lehrbuch der physiologischen Chemie (Jena, G. Fischer 1893) gegen die Annahme, dass in Schmiedebergs und Salkowskis Untersuchungen besondere, in dem Protoplasma der Zellen präformierte Enzyme thätig seien, die nach der Abtötung desselben durch das Chloroform zur Wirkung gelangen. Er erklärt das Histozym Schmiedebergs für nichts anderes als das fettspaltende Enzym des Pancreassaftes, das sogenannte Steapsin: in Salkowskis Versuchen glaubt er das diastatische Ferment, welches die Umwandlung des Leberglycogens bewirkte, als aus dem Pancreas oder aus den Speicheldrüsen abstammend ansehen zu können, das in Form seines Zymogens zur Resorption gelangt und dann bei der Behandlung mit Chloroformwasser in das Enzym übergegangen sei.

Wenn man auch von vornherein die Ansicht nicht von der Hand weisen kann, es seien die Pancreasfermente in die benachbarte Leber gelangt und dort zur Wirkung gekommen, so möchte ich doch aus verschiedenen Gründen mich gegen diese Auslegung aussprechen. In den gekochten Lebern hat sich, wie oben ausführlicher erörtert wurde, ein diastatisches Ferment wieder neu gebildet — es ist nun sehr unwahrscheinlich, dass das diastatische Ferment des Pancreas von der Leber resorbiert und durch Erhitzen zum Sieden gekocht, sich von neuem bilden sollte, zumal ein einmal gekochter Pancreasauszug nie wieder diastatische Wirkung ausübt, wie Seegen und Kratschmer (l. c.) bewiesen. Viel eher denkbar ist es, dass in dem Leberauszuge, welcher die gelösten Bestandteile der Leber und auch wohl trotz Coagulierens immer noch Spuren von Eiweiss enthält, sich ein neues Ferment durch Umlagerung der Molecüle bilden könne. Dass nun zuerst vor dem Kochen ein Pancreasferment wirksam sei, später nach dem Kochen

aber ein specifisches Leberferment, ist nicht wahrscheinlich, viel wahrscheinlicher, dass in der Leber von vornherein ein diastatisches Ferment vorhanden sei. Neumeister glaubt ferner, dass in einzelnen Versuchen Spuren von Trypsin vorhanden sei. In den Leberversuchen Salkowskis ist in den Hauptversuchen nie eine Peptonreaction aufgetreten, dagegen Leucin und Tyrosin zur Ausscheidung gekommen. Ausbleiben der Peptonreaction ist auch bei den Muskeln zu konstatieren gewesen, wo aber Leucin und Tyrosin fehlen. Ich glaube nun, dass bei Anwesenheit eines Trypsinfermentes sicher Peptonreaction nachzuweisen gewesen wäre. Dass das sämtliche Pepton durch Trypsin in weitere Spaltungsproducte umgewandelt sei, ist nicht nur nicht wahrscheinlich, sondern sogar sicher von der Hand zu weisen, da nach Kühne[44] und Schützenberger[45] grade durch Trypsin rasch und leicht das sogenannte Antipepton entsteht, welches weitere Enzymeinwirkung widersteht, während nur das Hemipepton eine weitere Zersetzung erfährt. Würde also Trypsin vorhanden gewesen sein, so müsste man wohl mit Sicherheit Peptone haben nachweisen können. Auch in meinem Versuche X ist nur Leucin und Tyrosin und keine Spur von Peptonen vorhanden. Auch dass Alkalisieren der Auszüge die Spaltung des Eiweiss nicht nur nicht verstärkt, sondern sogar herabsetzt, spricht wohl gegen die Anwesenheit des bei alkalischer Reaction besonders wirksamen Trypsins. Bezüglich der Fettspaltung hat schon Salkowski auf die fettspaltende Wirkung der Gewebe (Nencki und Lüdi[46]) aufmerksam gemacht. Nach alledem halte ich es für sehr unwahrscheinlich, dass es resorbierte Pancreasfermente seien, welche die Spaltungen in den Geweben hervorgerufen haben. Dazu kommen noch die Analogien in den Hefeversuchen sowohl Schützenbergers und Salkowskis, wo doch sicher durch intracellulare Verdauung, Selbstverdauung von Salomon (l. c.) oder Autodigestion von Salkowski ganz dieselben Processe verlaufen sind, wie in den tierischen Organen. Die Angabe von Salomon (l. c.), dass auch bei Pancreasverdauung in dem ersten Stadium Xanthinkörper auftreten, spricht auf den ersten Blick für die Ansicht von Neumeister, dass resorbierte Pancreas-

fermente bei unseren Processen thätig gewesen seien. Aber auch nur für den ersten Blick, denn bei dieser Verdauung verschwinden diese Stoffe bei längerer Enzymwirkung wieder, während in unseren Versuchen sie ebenso wie das eventuelle Leucin vollkommen erhalten blieben. Es müssen also besondere Enzyme gewesen sein, welche diese Spaltungen hervorgerufen haben.

Dass in den Geweben Enzyme vorkommen, haben unter anderem die Jaquetschen Versuche ergeben. Diese haben eine oxydierende Wirkung — warum sollten nicht auch Enzyme vorhanden sein, welche die bisher als eigentliche Enzymwirkung angenommenen hydrolytischen Spaltungen zur Folge haben. Man kann wohl annehmen, dass Enzyme Eiweisskörper sind, welche nach der einen oder anderen Richtung hin gewisse, bis jetzt meist noch nicht genau gekannte Veränderungen erlitten haben. Es ist doch nicht so von der Hand zu weisen, dass auch in den Zellen das Organeiweiss bestimmte Modificationen eingeht, um als neuer Körper mit neuen Eigenschaften ausgerüstet bestimmte Functionen auszuüben, wie sie Salkowski in seinem Vortrage „Ueber fermentative Processe in den Geweben" näher bezeichnet hat. Die Leberversuche, welche ich angestellt, sprechen doch sehr dafür, dass Enzyme aus den gelösten Zellbestandteilen sich bilden können. Vielleicht lassen sich auch die citierten Seegen-Kratschmerschen Versuche über die saccharificierende Wirkung gelöster Eiweissstoffe so deuten, dass diese durch die bacteriellen oder sonstigen Einwirkungen gewisse Modificationen erleiden und so enzymatische Wirkungen auszuüben im Stande sind — wenngleich ich doch lieber an der oben gegebenen Erklärung festhalten möchte. Jedenfalls ist es mir nicht zweifelhaft oder unwahrscheinlich, dass in den Geweben gelöste Fermente vorkommen — unabhängig von den bei der secretiven Verdauung in Thätigkeit tretenden Enzymen — und dann wird man auch die Bedeutung der in Salkowskis Versuchen zu Tage tretenden Vorgänge in biologischer Hinsicht nicht zu gering anschlagen dürfen.

Herrn Prof. Dr. E. Salkowski für die Anregung zu dieser Arbeit und die so überaus liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung der Untersuchungen auch an dieser Stelle meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen, ist mir eine ebenso angenehme wie ehrenvolle Pflicht.

Litteratur.

1. E. Salkowski, Ueber die antiseptische Wirkung des Chloroformwassers. Deutsche Medic. Wochenschrift. 1888, No. 16.
2. E. Salkowski, Ueber Zuckerbildung und andere Fermentationen in der Hefe. Zeitschrift für physiol. Chem. XIII, pag. 506 ff.
3. E. Salkowski, Ueber Autodigestion der Organe. Zeitschr. f. klinische Medicin. Bd. XVII. Suppl.
4. E. Fischer, Verbindungen des Phenylhydrazins mit den Zuckerarten. II. Bericht d. d. chem. Gesellsch.
5. J. Liebig, Annal. d. Chem. und Pharm. Bd. 62. pag. 326.
6. Heintz, Ueber die Natur der Milchsäure im Fleisch. Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. 157, p. 314.
7. M. Werther, Ueber die Milchsäurebildung und den Glycogenverbrauch im quergestreiften Muskel in der Thätigkeit und bei der Todtenstarre. Pflügers Archiv. Bd. 46, pag. 70 und 76.
8. Wislicenus, Ueber die isomeren Milchsäuren II. Annal. der Chem. u. Pharm. Bd. 167, p. 302 ff.
9. M. Siegfried, Ueber die Aethylenmilchsäure. Ber. d. d. chem. Gesellsch. 22 p. 2711 ff.
10. R. Maly, Ueber die Entstehung der Fleischmilchsäure (Paramilchsäure) durch Gährung. Ber. d. d. chem. Gesellsch. 1874. Bd. 7, p. 1567.
11. M. Nencki und N. Sieber, Ueber die Bildung von Paramilchsäure durch Gährung des Zuckers. Monatshefte für Chem. 10. 532—540.
12. Astaschewski, Ueber die Säurebildung und den Milchsäure-Gehalt der Muskeln. Zeitschr. f. physiol. Chem. IV, p. 397.
13. Warren, Ueber den Einfluss des Tetanus der Muskeln auf die in ihm enthaltene Säure. Pfluegers Arch. 24, 391-406.
14. Blome, R., Beiträge zur Chemie des gestreiften Muskels. Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharm. 28, p. 113—125.
15. Spiro, Zur Physiologie der Milchsäure. Zeitschrift f. physiol. Chem. I. p. 111—118.

16. G. Colazanhi und B. Moscatelli, Die Fleischmilchsäure im Harn der Soldaten nach anstrengenden Märschen. Estratto dal Bullettino della R. Accademia Medica di Roma. Anno XIII 1886—1887. Fasc. VIII.
17. Marcuse, Ueber die Bildung der Milchsäure bei der Thätigkeit des Muskels und ihr weiteres Schicksal im Organismus. Pfluegers Archiv, 39, p. 425.
18. Nasse, O., Zur Anatomie und Physiologie der quergestreiften Muskelsubstanz. Leipzig 1882. F. C. W. Vogel.
19. Boehm, Ueber das Verhalten des Glycogens uud der Milchsäure im Muskelfleisch mit besonderer Berücksichtigung der Todtenstarre. Pfluegers Arch. 23 p. 44.
20. S. Weiss, Zur Statik des Glycogens im Tierkörper. Sitzungsber. d. Wien. Acad. 69 I. Abth.
21. E. Kuelz, Beiträge zur Kenntnis des Glycogens. Festschrift zum 50jährigen Doctorjubiläum des Herrn C. Ludwig. 1890.
22. Berlinerblau, Ueber das Vorkommen der Milchsäure im Blute und ihre Entstehung im Organismus. Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 23, p. 333.
23. Gaglio, Die Milchsäure im Blute und ihre Ursprungsstätten. Du Bois-Reymond's Archiv f. Physiol. 1886 p. 400.
24. Wissocowitsch, Die Gewinnung der Milchsäure aus der künstlich durchleiteten Leber. Du Bois-Reymond's, Archiv 1887.
25. G. Salomon, Ueber die Verbreitung von Hypoxanthin und Milchsäure im tierischen Organismus. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1878, 2, p. 65.
26. Dastre, Arch. de physiol. norm. et pathol. 1888 p. 70.
27. Florence Eves. Einige Versuche über das Leberferment. Journ. of physiol. 5.
28. Foster, Journ. of anat. and physiol. I.
29. V. Pachutin, Versuche mit Fermenten, welche Stärke und Rohrzucker in Traubenzucker verwandeln. Archiv v. Reichert. 1871, p. 305.
30. Abeles, Beitrag zur Lehre von den saccharificierenden Fermenten im tierischen Organismus, Medicinische Jahrbücher II. Heft. 1876.
31. J. Seeger und Kratzchmer, Beitrag zur Kenntnis der saccharificierenden Fermente. Pflügers Arch. XIV p. 593.
32. v. Wittich 1. Über das Leberferment. Pflügers Arch. VII, p. 28. — 2. Weitere Mitteilungen über Verdauungsfermente.
33. Lepine, Entstehung und Verbreitung des tierischen Zuckerfermentes. Ber. d. k. sächs. Gesellsch. d. Wissenschaften. Oktober 1870.
34. J. Wortmann, Untersuchungen über das diastatische Ferment der Bacterien. Zeitschrift f. physiol. Chemie. 6, p. 287.
35. A. Pick, Ueber die saccharificierende Thätigkeit einiger Mikroorganismen. Wiener klinische Wochenschrift 1889. No. 5,6,7.

36. Fermi, Archiv f. Hygiene 10. p. 1—54.
37. Ludwig und Schmidt, Arbeiten aus der physiol. Anstalt zu Leipzig 1868. I.
38. Bunge und Schmiedeberg, Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharm. VI. p. 233
39. E. Salkowski, Kleinere Mitteilungen II: Ueber Oxydationen im Blut. Zeitschrift f. physiol. Chem. VII. p. 115.
40. A. Jacquet, Ueber die Bedingungen der Oxydationsvorgänge in den Geweben. Arch. f. experiment. Pathol. und Pharm. Bd. 29, p. 386.
41. Schmiedeberg, Arch. für experiment. Pathol. und Pharm. XIV. p. 296.
42. Schützenberger, Recherches sur la levûre de bière. Bull. de la soc. chem. de Paris 1874. Bd. 21.
43. Schmiedeberg, Ueber Spaltungen und Synthesen im Tierkörper. Arch. f. exper. Pathol. und Pharm. 14. p. 379.
44. Kühne, Weitere Mitteilungen über Verdauungsenzyme und die Verdauung der Albumine. Verh. der nat. hist. Ver. Heidelberg. 1876. 1. Heft 4.
45. Schützenberger, Recherches sur l'albumine et les matières albuminoides. Bull. de la Soc. chem. de Paris 23 und 24.
46. Luedy, Ueber die Spaltungen des Fettes in den Geweben. Inaug.-Dissert. Bern 1888.

Thesen.

I.

Die Bildung von Milchsäure im Muskel bei der Todtenstarre ist wahrscheinlich kein Absterbe-, sondern ein Lebensphaenomen.

II.

Die physiologisch-pathologische Chemie ist künftig im Studiengang der Mediciner mehr zu berücksichtigen als früher; namentlich sind practische chemische Curse obligatorisch einzuführen.

III.

Die Malthus'schen Befürchtungen bezüglich der Nützlichkeit hygienischer Einrichtungen sind hinfällig, selbst wenn die Richtigkeit der Malthus'schen Theorie zugegeben würde.

Lebenslauf.

Verfasser dieser Arbeit, Heinrich Schwiening, evangelischer Confession, wurde am 15. November 1870 zu Spremberg N. L. geboren, als Sohn des 1882 verstorbenen Landgerichtsrats Otto Schwiening. Seine wissenschaftliche Vorbildung erhielt er auf dem Gymnasium zu Cottbus, welches er Ostern 1889 mit dem Zeugnis der Reife verlies. Nachdem er vom 1. April 1889 bis 1. October desselben Jahres seiner halbjährigen Dienstpflicht mit der Waffe bei der 6. Comp. des 6. Brandenburgischen Infanterie-Regiments (v. Alvensleben) No. 52 genügt, wurde er am 21. October als Studierender des Königl. medic.-chirurg. Friedrich-Wilhelms-Instituts bei den Königl. militärärztl. Bildungsanstalten immatriculiert. Am 21. Juli 1891 bestand er die ärztliche Vorprüfung, am 27. Juni 1893 das Examen rigorosum.

Während seiner bisherigen Studienzeit besuchte er die Vorlesungen, Kliniken und Curse folgender Herren:

v. Bardeleben, v. Bergmann, du Bois-Reymond, Dilthey, Engler, Ewald, Fränkel, Gerhardt, Goldscheider, Gurlt, Gusserow, Hartmann(†), Hertwig, Hirsch, v. Hofmann(†), Israel, Jolly, A. Köhler, R. Köhler, Kossel, Kundt, Lewin, Leyden, Liebreich, Olshausen, Oppenheim, Rubner, Salkowski, Schulze, Schweigger, Schwendener, Schweninger, Siemerling, Sonnenburg, Strassmann, R. Virchow, Waldeyer.

Allen diesen Herren, seinen hochverehrten Lehrern, spricht Verfasser seinen ehrerbietigsten Dank aus.